



Pontificia Universidad
JAVERIANA
Bogotá

**EVALUACIÓN DE LOS INDICES Y LA MORFOLOGIA PLAQUETARIA COMO
POSIBLES BIOMARCADORES DE VALOR PRONÓSTICO EN SINDROME
MIELODISPLÁSICO**

Sara Alejandra Cadena Berdugo

APROBADO

Viviana Marcela Rodríguez Pardo PhD

Directora

Sandra Milena Quijano Gómez PhD

Co-Directora

Hugo Diez Horteaga PhD

Jurado

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA

FACULTAD DE CIENCIAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS DEL LABORATORIO CLÍNICO

BOGOTÁ, COLOMBIA

2022



Pontificia Universidad
JAVERIANA
Bogotá

**EVALUACIÓN DE LOS INDICES Y LA MORFOLOGIA PLAQUETARIA COMO
POSIBLES BIOMARCADORES DE VALOR PRONÓSTICO EN SINDROME
MIELODISPLÁSICO**

Sara Alejandra Cadena Berdugo

APROBADO

Jhon Jairo Sutachán PhD

PhD Director de Posgrados

Alba Alicia Trespacios Rangel

Decana

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA

FACULTAD DE CIENCIAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS DEL LABORATORIO CLÍNICO

BOGOTÁ, COLOMBIA

2022

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
MAESTRIA EN CIENCIAS DEL LABORATORIO CLÍNICO



**EVALUACIÓN DE LOS INDICES Y LA MORFOLOGIA PLAQUETARIA COMO
POSIBLES BIOMARCADORES DE VALOR PRONÓSTICO EN SINDROME
MIELODISPLÁSICO**

SARA ALEJANDRA CADENA BERUGO

Bogotá, Colombia

2022

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
MAESTRIA EN CIENCIAS DEL LABORATORIO CLÍNICO



**EVALUACIÓN DE LOS INDICES Y LA MORFOLOGIA PLAQUETARIA COMO
POSIBLES BIOMARCADORES DE VALOR PRONÓSTICO EN SINDROME
MIELODISPLÁSICO**

SARA ALEJANDRA CADENA BERDUGO

TRABAJO DE GRADO

**Presentado como requisito parcial para optar al título de
Magister en ciencias del laboratorio clínico**

VIVIANA MARCELA RODRÍGUEZ PARDO MSc. PhD

DIRECTOR

SANDRA MILENA QUIJANO GÓMEZ MSc. PhD

CODIRECTOR

Bogotá, Colombia, 2022

NOTA DE ADVERTENCIA

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará porque no se publique nada contrario al dogma y la moral católica y porque la tesis no contenga ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo por buscar verdad y justicia”

Artículo 23 de la Resolución N° 13 de Julio de 1946.

1. Identificación del proyecto

1.1. Título del proyecto:

Evaluación de los índices y la morfología plaquetaria como posibles biomarcadores de valor pronóstico en síndrome mielodisplásico.

1.2. Clasificación Traslacional:

El estudio que se plantea acerca de la evaluación de los índices y morfología plaquetaria en el Síndrome Mielodisplásico se clasifica en la fase de investigación T0, esto teniendo en cuenta que se plantea proyecto bajo la perspectiva de identificar oportunidades y aproximaciones a un problema de salud.

2. Generalidades y antecedentes del proyecto

2.1. Resumen ejecutivo

Los síndromes mielodisplásicos están caracterizados como un trastorno clonal que se diagnostica por la detección de citopenias en sangre periférica; son patologías que se asocian a personas de edad avanzada y generalmente tiene un mal pronóstico. Su diagnóstico se basa en hallazgos en sangre periférica (citopenia), medula ósea (celularidad y morfología) así como la evaluación citogenética.

Dentro de las citopenias estudiadas en pacientes que cursan con Síndrome Mielodisplásico se destaca la trombocitopenia; debido a que esta deficiencia de plaquetas puede llevar a los pacientes a presentar hemorragias que van desde leves a severas. Se ha estudiado que la trombocitopenia al momento del diagnóstico tiene un efecto adverso en el pronóstico de los pacientes con SMD, por lo que es un aspecto relevante en el curso de la enfermedad para los pacientes. De esta manera los hallazgos morfológicos de las plaquetas junto con los índices plaquetarios en el momento del diagnóstico son un factor importante asociado al desarrollo de la enfermedad.

Aunque no se tengan muchos reportes en la literatura sobre los índices plaquetarios en el curso de los SMD estos ya se encuentran en el radar de los clínicos y están empezando a cobrar fuerza debido a que una coloración básica en el frotis de sangre periférica permite hacer estudios en la morfología plaquetaria y por otro lado los contadores hematológicos automatizados en los cuales se procesa de rutina el cuadro hemático que contiene los índices plaquetarios puede dar una idea del estado de las plaquetas y su función en los pacientes. Es decir, los análisis de rutina en muestras de sangre periférica pueden contener información muy importante que oriente en la patología de alguna manera.

Es por esto por lo que se estudia la posibilidad que midiendo los valores plaquetarios incluyendo las plaquetas reticuladas en sangre periférica e identificando la morfología de estas células en pacientes con diagnóstico de síndrome mielodisplásico en comparación con individuos sanos, se generen datos importantes que puedan poner a las plaquetas como un posible biomarcador de valor pronóstico.

Palabras Clave: Síndrome mielodisplásico, biomarcadores, plaquetas, plaquetas reticuladas, índices plaquetarios.

2.2. Planteamiento del problema y de la pregunta de investigación e hipótesis

2.3.1 Planteamiento del problema y pregunta de investigación

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) corresponden a un grupo heterogéneo de trastornos clonales de células madre hematopoyéticas que conducen al desarrollo de citopenias progresivas las cuales tienen un riesgo elevado de evolución hacia leucemia mieloide aguda (LMA)(1). La estratificación de dicho riesgo en combinación con los requisitos de transfusión, guían el manejo actual de SMD. La estratificación del riesgo o IPSS (sistema internacional de puntaje del pronóstico) por sus siglas en inglés, es un estándar importante para evaluar el pronóstico de pacientes

adultos con SMD primarios. El diagnóstico de los SMD se basa principalmente en la identificación de citopenias en sangre periférica (SP), alteraciones morfológicas o cambios displásicos en médula ósea (MO) y en la identificación de alteraciones genéticas asociadas a SMD mediante citogenética o hibridación *in situ* fluorescente (FISH) (2).

Aunque el 50-80% de los pacientes con SMD eventualmente desarrollan LMA, las citopenias de SP (trombocitopenia, leucopenia y anemia) son las principales fuentes de morbilidad y mortalidad para los pacientes con SMD(3). Se ha demostrado que la prevalencia estimada de trombocitopenia marcada en SMD, definida como un recuento de plaquetas de $<100 \times 10^9/L$, oscila entre 40 y 65% mientras que la trombocitosis en el momento del diagnóstico es poco frecuente con una incidencia de alrededor del 7%. Estudios recientes demuestran que otros índices asociados a las plaquetas, diferentes a su recuento, pueden ser útiles en el pronóstico de los SMD(4,5); sin embargo, el sistema de puntuación de pronóstico internacional (IPSS) que predice la evolución y la supervivencia en los SMD *de novo*, no incluye índices plaquetarios diferentes al recuento de plaquetas o alteraciones morfológicas como variables de valor pronóstico.

Por lo tanto, este estudio busca proponer el análisis de los índices plaquetarios, adicionales al recuento de plaquetas, y cambios morfológicos con el fin de relacionarlos como posibles biomarcadores de valor pronóstico en pacientes con esta patología.

Para este fin la pregunta de investigación que se plantea es: ¿Los índices plaquetarios (volumen plaquetario medio (PM), ancho de distribución plaquetaria (ADP), plaquetocrito (PL) y plaquetas reticuladas o inmaduras) y cambios morfológicos de las plaquetas podrían considerarse como biomarcadores de valor pronóstico en SMD?

2.3.2 Hipótesis

La trombocitopenia es una manifestación clínica importante, que es valorada en el momento del diagnóstico y seguimiento clínico de pacientes con SMD mediante estudios de hemograma. La trombocitopenia con recuentos de plaquetas $<100 \times 10^9/L$ se presenta como una de las citopenias descritas en el Sistema Internacional de Puntuación Pronóstica (IPSS). Sin embargo, dos o más citopenias se traducen en una puntuación de 0,5, lo que no refleja la importancia de la trombocitopenia, o de trombocitopenia grave, en el momento del diagnóstico o pronóstico del SMD. Un modelo de riesgo pronóstico de SMD desarrollado y validado en el *MD Anderson Cancer Center* sugirió que la trombocitopenia con recuento de plaquetas $<50 \times 10^9/L$ es uno de los factores independientes de mal pronóstico más importantes durante el curso del SMD. Adicionalmente otros estudios relacionados han descrito que la trombocitopenia fue común en los SMD y estos tenían una mayor prevalencia en las categorías IPSS de mayor riesgo aunque muchas terapias para SMD aprobadas y en fase de investigación causaron o exacerbaron la trombocitopenia preexistente(6).

Teniendo en cuenta lo anteriormente mencionado como hipótesis el estudio se propone que la evaluación de la morfología plaquetaria en conjunto con los índices plaquetarios (volumen plaquetario medio (PM), ancho de distribución plaquetaria (ADP), plaquetocrito (PL) y evaluación de la fracción de plaquetas reticuladas o inmaturas) pueden ser biomarcadores de valor pronóstico en los pacientes diagnosticados con SMD.

2.4 Justificación

Como se ha mencionado anteriormente los síndromes mielodisplásicos (SMD) son trastornos heterogéneos de células madre hematopoyéticas caracterizados por citopenias, médulas celulares con hematopoyesis

ineficaz, presencia frecuente de anomalías citogenéticas, cambios displásicos en uno o más linajes que reflejan un aumento de la apoptosis, riesgo de transformación a leucemia mieloide aguda (LMA) o muerte por complicaciones de citopenias, y un pronóstico generalmente malo(7). La diversidad de la enfermedad y los cambios en los criterios diagnósticos estandarizados a lo largo de los años han dificultado la detección precisa de casos y la evaluación epidemiológica de SMD (8).

Se ha demostrado que la trombocitopenia (plaquetas $<100 \times 10^9/L$) se asocia, con una supervivencia significativamente más corta y con un aumento significativo del riesgo de transformación en LMA y sangrado. Adicionalmente varios estudios han reportado la trombocitopenia como una causa importante de muerte en el 10 al 30% de los pacientes; también se ha mostrado que las plaquetas en los pacientes con SMD son disfuncionales lo que podría contribuir a las manifestaciones hemorrágicas en los pacientes con SMD que cursan con recuentos normales de plaquetas(9). Estos antecedentes señalan a las plaquetas como una de las poblaciones celulares que más se afecta en el curso de SMD. Alteraciones en sus índices como el volumen plaquetario medio (PM), ancho de distribución plaquetaria (ADP), plaquetocrito (PL), evaluación de la fracción de plaquetas reticuladas o inmaduras y su morfología podrían considerarse como biomarcadores de valor pronóstico en los pacientes que son diagnosticados con SMD.

Con lo mencionado en los anteriores apartados y basándonos en la falta de estudios reportados no solo en Colombia si no a nivel global acerca de la importancia de tener en cuenta los índices plaquetarios evaluados en SP que adicionalmente son evaluados en los pacientes en un examen de rutina; estas deben ser estudiadas para identificar si pueden ser consideradas como variables pronosticas para el SMD.

2.3. Marco conceptual

2.5.1 Generalidades del Síndrome Mielodisplásico:

2.5.1.1 Definición, epidemiología global y manifestaciones clínicas

2.5.1.1.1 Definición:

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) hacen parte de un grupo de alteraciones clonales de las células madre hematopoyéticas con anomalías cromosómicas que impactan en los procesos de diferenciación celular. Estos se caracterizan por una hematopoyesis inefectiva con alteraciones funcionales y morfológicas que afectan en las células madre hematopoyéticas progenitoras y el linaje mieloide, promoviendo el desarrollo de citopenias periféricas progresivas con riesgo de evolucionar a LMA (10). Los SMD se han clasificado en primarios o “de novo” (SMDp) los cuales hacen referencia a una aparición espontánea, es decir sin una causa que los desencadene y en secundarios (SMDs) que a diferencia de los anteriores están relacionados con exposición a quimioterapia, agentes alquilantes e inhibidores de la topoisomerasa, terapia radiante y/o factores ambientales como el benceno y sus derivados(11). El pronóstico en los SMD, recientemente actualizado donde se incluyen estudios moleculares, sigue estando basado en gran medida en puntajes de pronóstico convencionales como *International Prognostic Scoring System* (IPSS), o el más reciente IPSS-R revisado, clasificando a los pacientes en SMD de "menor riesgo" (LR-MDS) y SMD de “alto riesgo” (HR-MDS)(12). El diagnóstico se basa en determinación de índices sanguíneos y valores celulares en MO, análisis morfológico, citometría de flujo, citogenética estándar de la MO en células metafase y estudios moleculares (12)(13).

2.5.1.1.2 Epidemiología global:

De acuerdo con la última actualización de la organización mundial de la salud (OMS) del año 2016 los SMD ocurren principalmente en adultos mayores y es más común en hombres que en mujeres. La incidencia anual reportada para esta enfermedad es de 3-5 casos por cada 100.000 habitantes y de al menos 70 casos por cada 100.000 habitantes mayores de 65 años si se tienen en cuenta los subregistros de cáncer (14).

El SMD es predominantemente una patología que afecta adultos mayores con una incidencia que aumenta progresivamente con la edad. Los primeros análisis de los datos de SEER demostraron una mediana de edad en el momento del diagnóstico de 76 años, con un 86,4 % de los pacientes diagnosticados a los 60 años o más y más de la mitad de los pacientes a los 75 años o más. Se observó que las tasas de incidencia estimadas aumentaron a 7,1 por 100 000 años-persona en personas de 60 a 69 años y a 35,5 por 100 000 años-persona en personas de 80 años o más(15).

2.5.1.1.3 Manifestaciones clínicas:

Los pacientes que padecen esta enfermedad cursan con síntomas relacionados con las citopenias. En su mayoría suelen estar anémicos, las neutropenias, aunque hacen parte del curso de la enfermedad son menos frecuentes al igual que las trombocitopenias. Aproximadamente un tercio de los pacientes dependen de transfusiones de glóbulos rojos y terapia de soporte al momento de su diagnóstico (16). La anemia (típicamente macrocítica) es la anomalía más común en SP y ocurre en aproximadamente el 80% al 85% de los pacientes. La trombocitopenia ocurre en alrededor del 30% al 45% de los casos de SMD y aproximadamente el 40% de los pacientes tienen neutropenia en el momento del diagnóstico. El impacto de la trombocitopenia a menudo se subestima; hasta el 53 % de los pacientes con SMD experimentan sangrado y hasta el 25 % experimentan eventos hemorrágicos graves durante el curso de la enfermedad(17).

Las manifestaciones clínicas del SMD son inespecíficas y muy variables, según el subtipo de SMD, y varían desde leves hasta potencialmente mortales. Las características clínicas de los SMD se superponen con una serie de trastornos hematológicos, incluida la leucemia mieloide aguda (LMA), la anemia aplásica, la linfocitosis granular grande, los trastornos mieloproliferativos y la hemoglobinuria paroxística nocturna(17,18). Algunos pacientes pueden presentarse con citopenias que, tras un estudio posterior, no pueden atribuirse a una causa específica y, por lo tanto, se denominan citopenias idiopáticas de significado incierto. Tales entidades pueden representar una forma frustrada de SMD o pueden evolucionar a SMD franco con el tiempo(18,19).

2.5.1.1.4 Clasificación de los Síndromes Mielodisplásicos (SMD):

De acuerdo con la última clasificación de la OMS la clasificación de los SMD teniendo en cuenta su morfología se basa principalmente en el porcentaje de blastos en MO y en SP. Sin embargo, comprende otras características importantes que incluyen los diferentes linajes como tipo y grado de displasia, porcentaje de sideroblastos en anillo y los estudios citogenéticos que incluyen la evaluación de alteraciones como la del(5q), entre otras (tabla 1). Para determinar el porcentaje de blastos en SP la recomendación de la OMS es realizar el recuento diferencial de 200 leucocitos en el frotis sanguíneo. Este recuento de blastos en SP es importante teniendo en cuenta que algunos pacientes pueden llegar a presentar mayores porcentajes de blastos en sangre respecto a la MO de acuerdo a los reportes de la literatura(16). El número de linajes con displasia detectado en el paciente es relevante para predecir el comportamiento de la enfermedad y ayuda a ubicar el subtipo de SMD en el que se clasifica al paciente como se muestra en la tabla 1.

Es importante destacar que teniendo en cuenta que estas aproximaciones se realizan a partir de SP la técnica tanto de extendido como de coloración juegan un papel importante en la clasificación del SMD, de igual manera de acuerdo con algunos estudios realizados las muestras no deben estar expuestas más de dos horas a anticoagulantes ya que estos pueden alterar la morfología y el recuento de las células(14,20).

Subtipo SMD	Características
SMD con displasia de un solo linaje (MDS-SLD).	Displasia en 1 linaje, de 1 a 2 citopenias, entre el 5 y el 15% de sideroblastos en anillo, menos del 5% de blastos.
SMD con sideroblastos en anillo.	Displasia de 1 a 3 linajes, de 1 a 3 citopenias, más del 15% de sideroblastos en anillo, menos del 5% de blastos.
SMD con displasia multilinaje (MDS-MLD).	Displasia en 2 a 3 linajes, de 1 a 3 citopenias, menos del 15% de sideroblastos en anillo, menos del 5% de blastos.
SMD con exceso de blastos-1 (MDS-EB1)	Displasia en 1 a 3 linajes, de 1 a 3 citopenias, sin sideroblastos en anillo, 5-9% de blastos en MO, 2-4% de blastos en SP.
SMD con exceso de blastos-2 (MDS-EB2)	Displasia en 1 a 3 linajes, de 1 a 3 citopenias, sin sideroblastos en anillo, 10-19% de blastos en MO, 5-19% de blastos en SP.
SMD inclasificable (MDS-U)	Displasia de 1 a 3 linajes, de 1 a 3 citopenias, menos de 5% de blastos en MO o SP.

SMD con del(5q) aislado	Displasia en 1 a 3 linajes, de 1 a 2 citopenias, sin presencia de sideroblastos en anillo, del(5q) sola o con 1 anomalía adicional, excepto pérdida del cromosoma 7 o del(7q).
-------------------------	--

Tabla 1: Subtipos del síndrome mielodisplásico teniendo en cuenta la última clasificación de la OMS.

2.5.1.2 Diagnóstico y variables de valor pronóstico de la enfermedad

El diagnóstico se basa en la presencia de citopenias en SP en al menos uno de los linajes hematopoyéticos, displasia/blastos en SP y MO y anomalías citogenéticas clonales (21). La citopenia debe ser persistente es decir ≥ 6 meses, sin explicación y otras causas de citopenia como medicamentos, condiciones médicas subyacentes, hemoterapia y/o radioterapia previa, exposiciones ambientales/ocupacionales, antecedentes familiares de trastornos hematológicos deben evaluarse y excluirse antes de considerar un diagnóstico de SMD(22) (Figuras 1 y 2). El diagnóstico preciso del SMD requiere material de alta calidad para el análisis morfológico, incluida la revisión de un frotis de sangre periférica (FSP), un aspirado de MO representativo (así como una tinción de hierro en el frotis del aspirado) y una biopsia MO adecuada (23). Sin embargo es importante tener en cuenta que el diagnóstico representa un reto para los profesionales debido a que el curso biológico de la enfermedad es muy variable, siendo prolongado e indolente en algunos pacientes y rápidamente progresiva con evolución a LMA (24).

2.5.1.2.1 Hallazgos en sangre periférica (SP)

Los valores estándar de laboratorio para citopenias son hemoglobina <13 g/dL (hombres) o <12 g/dL (mujeres), recuento absoluto de neutrófilos $<1,8 \times 10^9/L$ y

plaquetas $<150 \times 10^9/L$, o por debajo de la referencia de cada laboratorio. La anemia es la citopenia más común en la presentación de la enfermedad; puede ser aislada o puede coexistir con neutropenia o trombocitopenia. La anemia suele ser macrocítica, con una mediana de volumen corpuscular medio (MCV) de 97 fL y el índice de producción de reticulocitos suele ser bajo. La presentación con neutropenia aislada o trombocitopenia es poco común. Los síntomas y signos suelen estar relacionados con las citopenias e incluyen debilidad, palidez, fatiga, petequias y sangrado. Los pacientes ocasionalmente son asintomáticos y se observan citopenias en un hemograma completo de rutina o cuando existe aumento de blastos, la morfología displásica o las anomalías citogenéticas clonales se identifican en estudios de SP o MO obtenida para otros fines(25).

En el frotis de SP, anisopoiquilocitosis (variación en tamaño y forma) de los eritrocitos, frecuentemente con macrocitosis, asociada con un aumento en el ancho de distribución de los glóbulos rojos. La evaluación morfológica del frotis de SP también puede mostrar un punteado basófilo en los glóbulos rojos y plaquetas hipogranulares anormales, los neutrófilos displásicos pueden mostrar morfología Pseudo-Pelger-Huet (bilobulado) y citoplasma hipogranular y se pueden evidenciar blastos circulantes (Tabla 2) (16,20,26).

Anormalidades morfológicas encontradas en los Síndromes Mielodisplásicos		
Eritropoyesis	Granulopoyesis	Megacariositos
Anomalías megaloblastoides	Precusores desgranulados	Micromegacariocitos
Contorno nuclear irregular	Hiposegmentación (células Pseudo-Pelger)	Megacariocitos mononucleares
Multinuclearidad cariorrexis	Hipersegmentación	Múltiples núcleos megacariocíticos
Pequeños fragmentos nucleares	Agrupación anormal de cromatina	dispares
Brotación nuclear		
Asincronía		

Punteado basófilo	Filamentos de cromatina	
Vacuolización citoplasmática	Deficiencia parcial de peroxidasa	
Sideroblastos en anillo		
PAS-positividad de precursores eritroides.		

Tabla 2: Anomalías morfológicas identificadas en sangre periférica relacionadas con Síndrome Mielodisplásico. (20,27,28)

2.5.1.2.2 Hallazgos en medula ósea (MO)

Los hallazgos reportados en el mielograma en pacientes con SMD complementan el diagnóstico de la enfermedad. Estos aumentan la precisión diagnóstica en comparación con el frotis de SP por sí solo. Este proporciona información adicional sobre el porcentaje de blastos y su distribución en el espacio medular el cual es parte fundamental para su clasificación. La celularidad de la muestra, así como la presencia de fibrosis del estroma y la descripción morfológica de los megacariocitos son características de gran importancia en el diagnóstico y evolución en el SMD.

En este sentido es importante destacar que la MO en los SMD suele ser hiper celular, aunque algunas veces puede presentarse normo o hipocelular. Histológicamente los subtipos de SMD agresivos se pueden caracterizar por la presencia de agregados (3-5 células) o grupos (>5 células) de células mieloides inmaduras en la médula(16).

2.5.1.2.3 Diagnóstico por citometría de flujo

Los hallazgos fenotípicos deben ser interpretados teniendo en cuenta el contexto clínico del paciente y los demás estudios hematológicos. La muestra indicada para el estudio es la médula ósea ya que permite evaluar los distintos estadios

madurativos de las poblaciones hematopoyéticas. Se sugiere evaluar la muestra de aspirado de MO anticoagulada con EDTA o heparina y sólo en heparina si la muestra se procesa luego de las 24 horas(11). Es necesaria la combinación de al menos 8 fluorescencias según las recomendaciones actuales reportadas por el Consorcio Europeo EuroFlow(29). Dentro de las alteraciones fenotípicas más frecuentes en células precursoras de la MO con SMD se destacan: en los progenitores CD34+ mieloides; aumento relativo y absoluto de células CD34+, aumento relativo y absoluto de células CD34-/CD117+, complejidad interna SSC (*side scatter*) anormal, expresión aberrante de CD11b y/o CD15, ausencia/disminución de los marcadores CD13, CD33, CD34, CD38, CD45, CD117 o HLA-DR, sobreexpresión de CD13, CD33, CD34, CD117, expresión aberrante de antígenos asociados a linaje linfóide como nTdT, CD5, CD7, CD19 o CD56. En los progenitores CD34+ linfoides se puede evidenciar disminución absoluta y relativa del número de células CD34+ totales (CD19+/CD10+) y ausencia de expresión del marcador específico de linaje B cyCD79a (29).

Por otro lado, las alteraciones fenotípicas en células maduras de la MO con SMD en las diferentes líneas celulares es importante destacar: de la serie granulocítica SSC disminuido (hipogranularidad), anormalidad en los patrones de maduración reportados para las combinaciones CD16/CD13 y CD13/CD11b, ausencia/disminución de CD13 y CD33, expresión aberrante de CD34, CD117, HLA-DR, expresión de antígenos linfoides, disminución en la expresión de CD45, expresión anormal de CD15, CD36 y CD64, asincronismo madurativo evaluado por la combinación CD10/CD16 y desvío asincrónico hacia la izquierda (11).

En la serie monocítica se puede identificar SSC anormal (granularidad), anormalidad en los patrones de maduración en descritos para las combinaciones de marcadores HLADR/CD11b, CD13, CD33, CD64/CD36/CD14, ausencia de expresión de CD13, CD14 y CD33, expresión aberrante de CD34, expresión de antígenos linfoides (con excepción del marcador CD4), disminución en la expresión de CD45 y en la serie eritroide se destaca la expresión anormal de CD45, expresión de CD34, expresión anormal de CD71, CD117 y CD36 (11).

2.5.1.2.4 Estudios citogenéticos y moleculares

Dentro de las anomalías genéticas implicadas en el desarrollo de SMD los componentes del spliceosoma, más comúnmente estudiados son SF3B1, SRSF2, U2AF1 y ZRSR2, están mutados en hasta el 60 % de los pacientes con MDS, y los cambios ocurren como sustituciones de un solo aminoácido en puntos críticos definidos. Por otro lado, los genes implicados en la metilación del DNA y la modificación de las histonas constituyen una segunda clase común de mutaciones en los SMD. Se han identificado mutaciones recurrentes de sentido erróneo, sin sentido, sitio de empalme y cambio de marco de lectura en DNMT3a, una DNA metiltransferasa de novo, y TET2, una enzima que hidroxila las citosinas metiladas para iniciar el proceso de desmetilación del ADN(30).

La diferenciación hematopoyética implica la activación de programas de expresión génica específicos del linaje mediante factores de transcripción centrales, como GATA2 y RUNX1. El gen supresor de tumores TP53 desempeña un papel clave en la coordinación de las respuestas al estrés celular, como el daño del ADN. Las mutaciones sin sentido de TP53 son particularmente frecuentes entre los pacientes con SMD que se han sometido a quimioterapia, en quienes su frecuencia se acerca al 40 %(31).

De acuerdo con la clasificación de la OMS de 2016, la presencia de ciertas anomalías citogenéticas asociadas a SMD como -7 , $\text{del}(7q)$, $\text{del}(5q)$ e $i(17q)$, son suficientes para confirmar un diagnóstico de SMD en un paciente citopénico, incluso cuando el paciente no cursa con displasia significativa. Sin embargo, algunas de las anomalías citogenéticas relacionadas con los SMD, como $\text{del}(20q)$, $+8$ y $-Y$, pueden verse en personas de edad avanzada en pacientes con citopenias sin SMD(23).

Con la aplicación de la secuenciación de próxima generación, mutaciones somáticas recurrentes en genes involucrados en la regulación epigenética (TET2, ASXL1, EZH2, DNMT3A, IDH1/2), empalme de ARN (SF3B1, SRSF2, U2AF1,

ZRSR2), respuesta al daño de ADN (TP53), regulación transcripcional (RUNX1, BCOR, ETV6) y transducción de señales (CBL, NRAS, JAK2) han sido identificado en MDS.

La clasificación de la OMS descrita en el año 2016 ahora incorpora el uso de una sola mutación, SF3B1, en la definición de un solo subtipo de SMD, SMD con sideroblastos en anillo, todavía existen varios desafíos al aplicar los datos de mutación de NGS a un diagnóstico.

Tabla 3:
genéticas
relacionadas
diagnóstico
síndromes

Mutaciones genéticas en SMD	
Mutaciones con alta frecuencia	
-	-7,
-	del(7q)
-	i(17q)
-	del 5q
-	Inv (3) (q21.3q26.2)
-	t(3;3)(q21,3;q26.2)
-	Ganancia del cromosoma 8
-	Perdida del cromosoma 7 o del (7q)
-	del(20q)
Mutaciones con frecuencia media	
-	perdida del cromosoma y
-	perdida del cromosoma 13
-	del(12p) o t(12p)
Mutaciones con frecuencia baja	
-	t(11;16) (q23;p13.3)
-	t(3;21) (q26;q22.1)
-	t(1;3) (p36.3;q21.2)
-	t(2;11) (p21q23)
-	inv (3) (q21q26.2) /t(3;3) (q21.3) (q21.3;q26.2)
-	t(6;9) (p23;q34)

Mutaciones
más comunes
en el
de los

mielodisplásicos, reportadas en la literatura teniendo en cuenta la frecuencia de aparición en el diagnóstico de SMD (32–34).

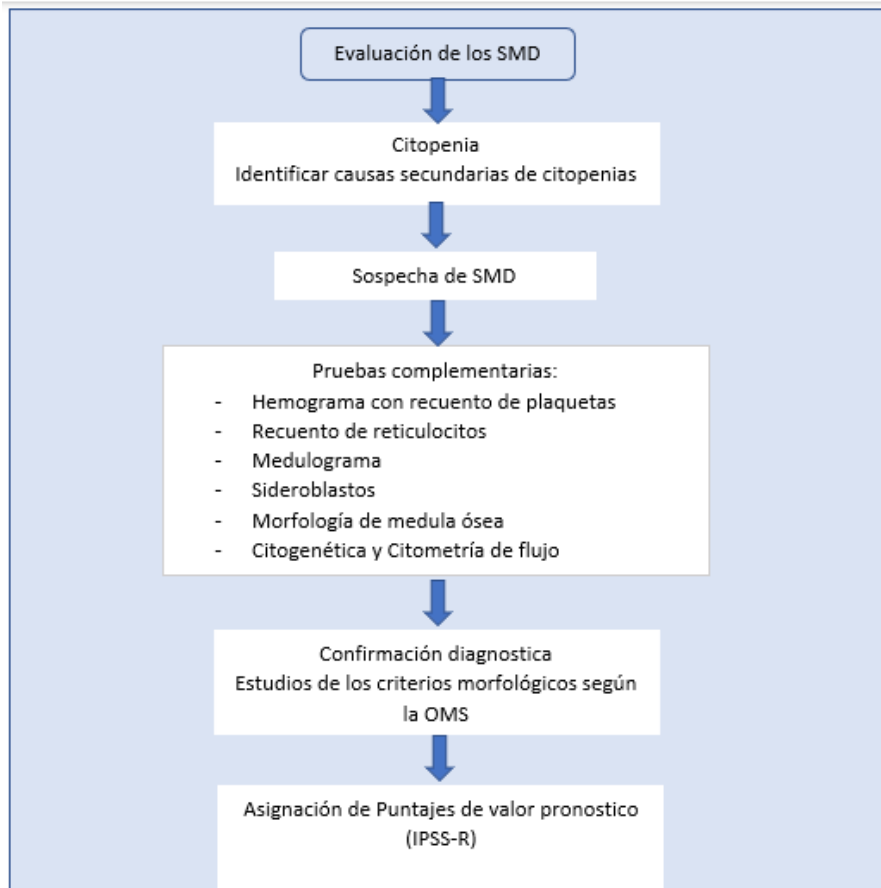


Figura 2: Algoritmo diagnóstico en el que se reflejan las principales acciones a seguir teniendo en cuenta la literatura reportada (11,32,33).

2.5.1.2.5 Pronóstico

A partir de los diferentes aspectos necesarios para llegar a un diagnóstico se aplican los sistemas de puntuación para la estratificación de los niveles de riesgo los cuales aportan tanto al pronóstico como al diagnóstico. Los sistemas de puntuación de pronóstico son esenciales para la evaluación inicial del paciente, estratificación y posterior decisión de tratamiento. Se desarrolló el Sistema Internacional de Puntuación Pronóstica (IPSS) en 1997 e incluye el porcentaje de blastos, el número de citopenias y la presencia de anomalías citogenéticas para clasificar a los pacientes en 4 categorías de riesgo (bajo, intermedio-1 [INT-1], intermedio-2 [INT-2] y alto). El sistema de puntuación de pronóstico basado en la clasificación de la OMS incorpora las categorías morfológicas de la OMS, las categorías citogenéticas

del IPSS y la presencia o ausencia de anemia grave (hemoglobina < 9 g/dl para hombres y <8 g/dl para mujeres) para clasificar a los pacientes en 5 categorías de riesgo (muy bajo, bajo, intermedio, alto y muy alto)(35).

La versión del IPSS (IPSS-R) es actualmente el sistema de puntuación estándar aceptado e incluye una clasificación de riesgo citogenético refinada (Tabla 4), una estratificación mejorada por recuento de blastos en la médula ósea y grados de citopenias más claramente definidos para clasificar a los pacientes en 5 categorías de riesgo (muy bajo, bajo , intermedio, alto y muy alto) (35).

Clasificación IPSS-R	Score	Criterios
Muy bajo	0 – 1,5	% de blastos 0-2, hemoglobina ≤ 10 g/dl, plaquetas $\leq 100 \times 10^9/L$, neutrófilos $\leq 0,8 \times 10^9/L$.
Bajo	>1,5 – 3,0	% de blastos 3-4,9, hemoglobina 8-9,9 g/dl, plaquetas $< 50 \times 10^9/L$, neutrófilos $< 0,8 \times 10^9/L$.
Intermedio	>3,0 – 4,5	% de blastos 5-10, hemoglobina < 8 g/dl, plaquetas $< 8 \times 10^9/L$, neutrófilos $< 0,8 \times 10^9/L$.
Alto	>4,5 – 6,0	% de blastos > 10 , hemoglobina < 8 g/dl, plaquetas $< 8 \times 10^9/L$, neutrófilos $< 0,8 \times 10^9/L$.
Muy alto	>6,0	% de blastos entre 10 y 20, hemoglobina < 8 g/dl, plaquetas $< 8 \times 10^9/L$, neutrófilos $< 0,8 \times 10^9/L$.

Tabla 4: Clasificación de los SMD teniendo en cuenta el sistema internacional de puntuación pronóstica revisado (IPSS-R) y sus criterios de identificación.

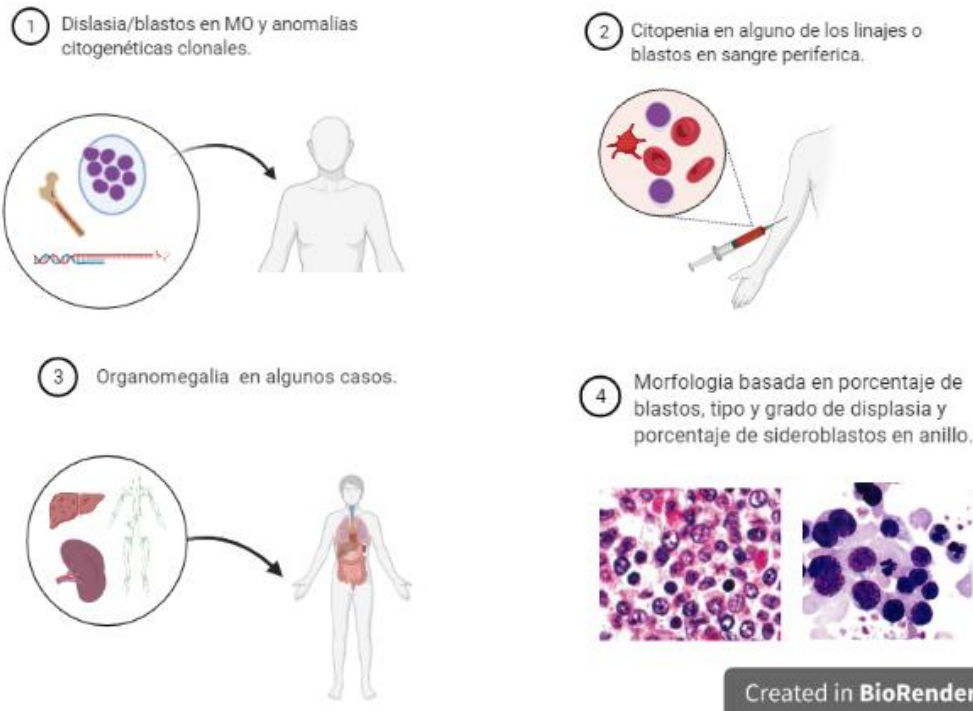


Figura 2. (Creado en BioRender) Características Clínicas del SMD. La mayoría de los pacientes cursan con citopenias que se observan en medula ósea o sangre periférica, presencia de blastos y hasta esplenomegalia. La morfología está basada en el porcentaje de blastos con el cual se identifica el grado de displasia. Basado en la última clasificación de SMD de la OMS 2017(14,22).

Un diagnóstico de SMD se debe considerar incluso en niveles bajos de anemia que comprenden rangos de hemoglobina en hombres $<13\text{g/dl}$ o $<12\text{g/dl}$ en mujeres (a nivel del mar) o cuando existen trombocitopenias en las que el recuento de plaquetas es $<150 \times 10^9/\text{L}$ con hallazgos citogenéticos o morfológicos(36).

Dentro del diagnóstico de un SMD se puede considerar trombocitopenia, leucopenia, anemia persistente y morfología displásica sin embargo estas se pueden clasificar como neoplasia mielodisplásica mieloproliferativa (MDS/MPN) o neoplasia mieloproliferativa (16); sin embargo, la diferenciación del diagnóstico la puede hacer los análisis citogenéticos en los que se pueden identificar anomalías genéticas características relacionadas con el SMD (Figura 3). Morfológicamente el

diagnostico se puede realizar con el resultado de displasia en una o más de las líneas celulares mieloides la cual se puede complementar con mieloblastos; teniendo en cuenta que 20% de blastos representa el umbral que separa la LMA del SMD(37).

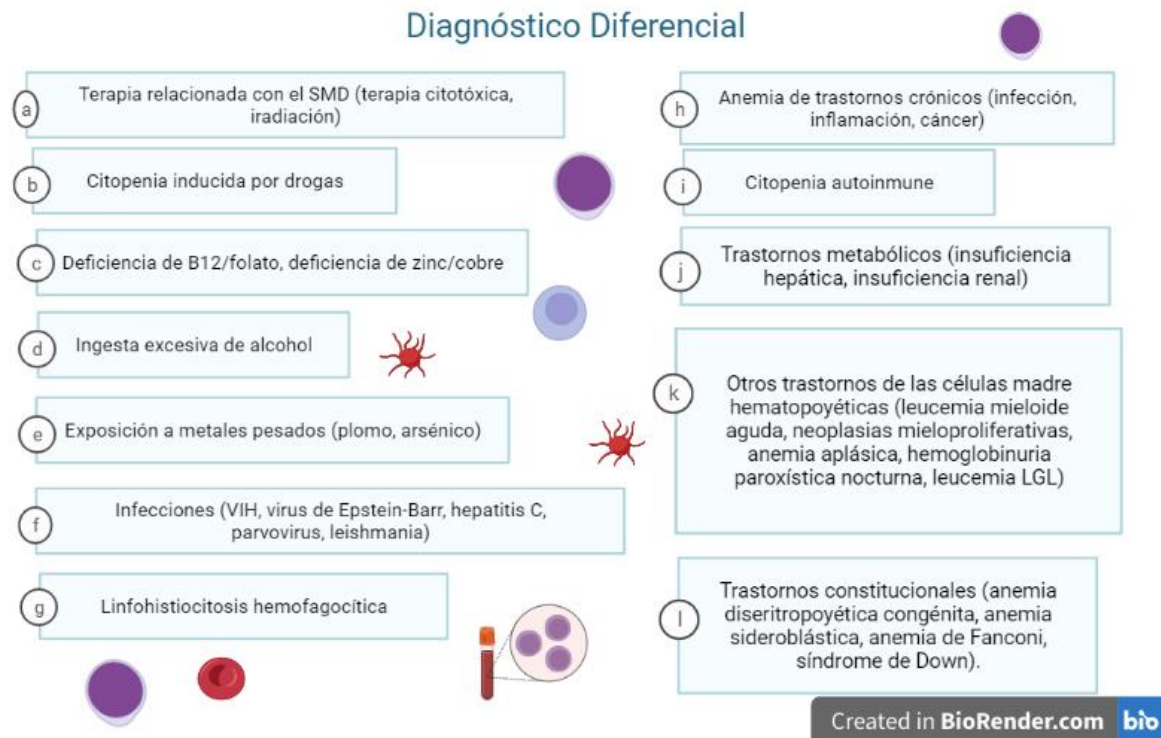


Figura 3. Causas de citopenia/displasia reactiva, así como otros trastornos clonales de células madre y anomalías congénitas diferenciales del SMD. Adaptado de(37). **(Creado en BioRender).**

2.5.1.3 Tratamiento convencional para los Síndromes Mielodisplásicos (SMD)

Los SMD como se ha mencionado anteriormente tienen una presentación clínica heterogénea, lo cual trae consigo un pronóstico muy variable generando la necesidad de un tratamiento individualizado. El pronóstico y el tratamiento dependen de la determinación convencional del IPSS y su forma revisada IPSS-R.

El tratamiento de pacientes con SMD de bajo riesgo se orienta hacia la mejora de las citopenias, especialmente de la anemia. El objetivo del tratamiento en pacientes con SMD de alto riesgo es retrasar la progresión de la enfermedad y mejorar la supervivencia del paciente. El único método curativo para el tratamiento de los SMD es el trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas (HSCT), sin embargo, su aplicación depende de la edad del paciente y de las comorbilidades (38).

Para la atención de pacientes de bajo riesgo esta descrita la atención de apoyo la cual incluye la transfusión de hemoderivados para minimizar las complicaciones de las citopenias y mejorar la calidad de vida, así como antibióticos para tratar infecciones activas. Casi todos los pacientes con MDS necesitan transfusiones de glóbulos rojos en algún momento, mientras que menos necesitan plaquetas. La frecuencia de la transfusión depende de la extensión de la enfermedad y de las comorbilidades. Por lo general, los glóbulos rojos se administran cuando el nivel de hemoglobina cae por debajo de 8,5 g/dL y las plaquetas se administran cuando el recuento de plaquetas es inferior a $100 \times 10^9/L$, en ausencia de síntomas. Los pacientes con anemia sintomática deben recibir una transfusión para aliviar sus síntomas. Algunos pacientes necesitan transfusiones ocasionalmente, mientras que otros dependen de estas(19).

Una vez que un paciente comienza a requerir transfusiones de glóbulos rojos, se puede considerar un agente estimulante de la eritropoyesis (EPA). Estos incluyen agentes recombinantes como eritropoyetina (Procrit) y darbepoetina alfa (Aranesp). La respuesta se mide como una mejora en la hemoglobina o como independencia de las transfusiones en aquellos que antes dependían de ellas. Los pacientes con mayor probabilidad de responder son aquellos cuya pre transfusión nivel de eritropoyetina está por debajo de 100 UI/L y que tienen necesidades de transfusión mínimas. Se puede considerar la adición de un factor estimulante de colonias para pacientes con neutropenia. En promedio, alrededor del 40% de los pacientes finalmente responden a un EPA, pero aquellos que responden eventualmente desarrollan resistencia al agente. Los datos retrospectivos indican que el uso de EPA puede mejorar la supervivencia en SMD(34,39,40).

Si el tratamiento con EPA es ineficaz, se pueden considerar otros tratamientos, generalmente iniciados por un hematólogo o un oncólogo médico. La terapia inmunosupresora con globulina anti-timocito (timoglobulina) es una opción para pacientes con SMD hipocelulares o inmunomediados. Este tratamiento puede disminuir la necesidad de transfusiones y puede mejorar el hemograma. La lenalidomida (Revlimid) para SMD con delección aislada del cromosoma 5q29 puede disminuir la necesidad de transfusiones de sangre en aproximadamente dos tercios de estos pacientes(19).

Las plaquetas expresan algunas quinasas (BCR, ABL, JAK2, KIT, receptores de factor de crecimiento derivado de plaquetas, ephA2 y la tirosina quinasa de Bruton) que son dianas de fármacos ampliamente utilizados para tratar cierto tipo de trastornos hematológicos que suelen estar relacionados con la incidencia de hemorragias por trombocitopenia inducida. Sin embargo, estos tratamientos también podrían afectar la función plaquetaria(41). El estudio de la función plaquetaria en pacientes tratados podría proporcionar una herramienta importante para determinar los riesgos de sangrado asociados a medicamentos y trombosis.

2.5.2.1.4 Papel de las plaquetas en los Síndromes Mielodisplásicos (SMD)

Las plaquetas participan en más procesos fisiopatológicos de lo que se podría predecir por su simplicidad estructural inherente, por ejemplo, hemostasia, trombosis, inflamación, defensa inmune, cáncer y angiogénesis. Esta capacidad de realizar múltiples tareas se debe a dos características de las plaquetas: receptores en sus membranas y síntesis y liberación de muchos factores después de la activación plaquetaria (Figura 4). En conjunto, estos mecanismos permiten que las plaquetas interactúen con otros tipos de células y regulen su función. Estas interacciones también podrían tener lugar entre las plaquetas y las células malignas circulantes, como se ve por los efectos que tienen las plaquetas sobre la metástasis y las alteraciones en la función plaquetaria que se observan en los trastornos hematológicos. (41). Informes recientes en la literatura revelan que las plaquetas son actores importantes en diferentes aspectos de la fisiología y la fisiopatología

más allá de la hemostasia y la trombosis, incluyendo pero no limitando, la inflamación, o la defensa del huésped(41).

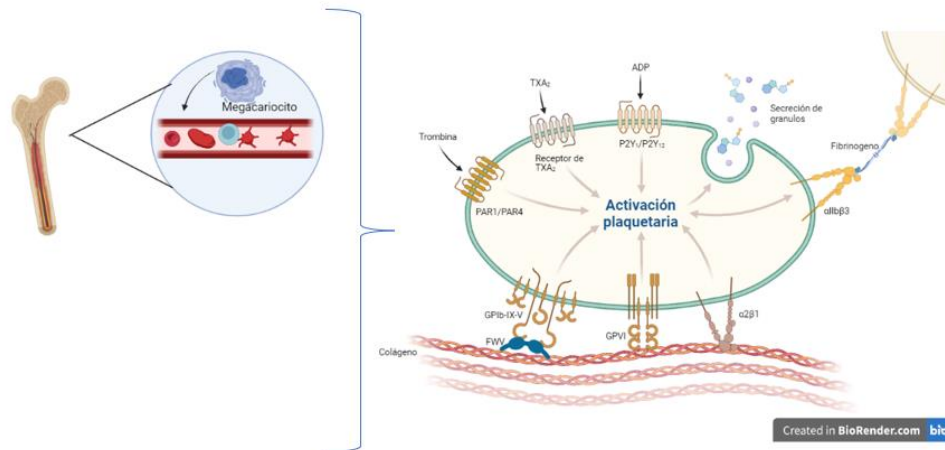


Figura 4: (Creado en biorender) Vista general de la activación plaquetaria donde se pueden observar los procesos que se llevan a cabo en las plaquetas que son funcionales para su correcta activación y posterior aporte en la cascada de la coagulación. adaptado de (41,42).

Como se mencionó anteriormente una de las citopenias que puede estar relacionada con un diagnóstico de SMD es la trombocitopenia. En ese caso se ha reportado en los pacientes con SMD una dismegacariopoyesis caracterizada por megacariocitos de tamaño pequeño, generalmente con forma hipolobulada y/o monolobulada y megacariocitos con lóbulos nucleares separados. Dentro de la anisopoiqilocitosis en SP, comúnmente se observan plaquetas grandes y/o hipogranulares; sin embargo, los cambios en las plaquetas no son específicos de los SMD, ya que se describen también en otras patologías (22).

La trombocitopenia es un problema hematológico frecuente en los SMD. Su manejo clínico sigue siendo un reto importante ya que las complicaciones hemorrágicas son una causa importante de morbilidad, así como del retraso y/o reducción de dosis del tratamiento quimioterapéutico. Las transfusiones de plaquetas son la única opción de tratamiento de apoyo para la trombocitopenia clínicamente significativa.

Aunque son eficaces para aumentar el recuento de plaquetas, las transfusiones de plaquetas son costosas, inconvenientes y potencialmente transmiten infecciones. El desarrollo de nuevos agentes estimulantes de plaquetas como romiplostim y eltrombopag está justificado para el tratamiento de SMD. Los datos clínicos recientes que utilizan romiplostim en SMD como monoterapia y en combinación con agentes hipometilantes o lenalidomida son prometedores. También se están realizando estudios que evalúan eltrombopag para tratar estos pacientes(43).

La trombocitopenia, definida como un bajo recuento de plaquetas (BRP) inferior a $100 \times 10^9/L$, ocurre en el 40-65 % de los pacientes con SMD, es más común en los ancianos y en pacientes con enfermedad de alto riesgo. La trombocitopenia severa, (recuento plaquetario bajo) $BRP < 30 \times 10^9/L$ ocurre en el 7,1% de los pacientes con SMD. El BRP bajo, así como la disfunción plaquetaria, se asocia con sangrado en el 19% de los pacientes con SMD y el sangrado es la causa de muerte en 10 %-20% de pacientes con SMD.

El recuento de plaquetas bajo también se considera un factor pronóstico independiente y se ha introducido en los sistemas de clasificación pronóstica, ya que se cree que refleja la función y la reserva de la MO. Un estudio reciente publicado por Itzykson et al ha demostrado que no solo la trombocitopenia en la presentación, sino también la rápida disminución del recuento de plaquetas (cinética) podría ser un biomarcador de mal pronóstico (44). Además, el contenido de ARNm en las plaquetas podría variar debido a circunstancias patológicas, lo que sugiere que el análisis de las plaquetas características del ARNm podría ser un método potencial para diagnosticar enfermedades(41).

La incidencia y los resultados de los pacientes con trombocitopenia grave (plaquetas $< 20 \times 10^9/L$) están menos reportados, pero afectan aproximadamente al 17 % de los pacientes y se asocian con un aumento del sangrado y un mayor riesgo teniendo en cuenta el Sistema de puntuación pronóstico internacional revisado (IPSS-R). El sangrado es una causa atribuible de muerte en 13 a 24% de los pacientes de pacientes con SMD. Las transfusiones (para pacientes con sangrado)

se administran comúnmente para prevenir y tratar el sangrado en pacientes con SMD y trombocitopenia grave. Sin embargo, están asociados con riesgos que incluyen contaminación bacteriana como se mencionó anteriormente, así como con reacciones alérgicas, reacciones febriles no hemolíticas, aloinmunización HLA y refractariedad, además de costos y compromiso de tiempo significativo por parte de los pacientes.(45)

La trombocitopenia, en los SMD, suele ser principalmente de origen central, asociada con una vida útil normal de las plaquetas. Sin embargo, también se ha observado destrucción inmunológica periférica de plaquetas en algunos casos de SMD y mejora de los recuentos de plaquetas con fármacos utilizados en la púrpura trombocitopénica autoinmune (incluidos esteroides, alcaloides de la vinca, dosis altas de inmunoglobulina y andrógenos) ha sido reportado en algunos de esos pacientes (46)

Estudios reportados recientemente sugieren que el mecanismo de la trombocitopenia debe estudiarse más a menudo en SMD de "bajo riesgo" (es decir, con recuentos bajos de blastos en la MO) con trombocitopenia, ya que alrededor del 15 % de ellos parecen tener destrucción plaquetaria periférica. Algunos de esos pacientes pueden beneficiarse de la esplenectomía (46).

Un estudio realizado en el que se evaluó el componente plaquetario medio y el volumen plaquetario medio en SP de pacientes con SMD comparado con anemia aplásica, púrpura trombocitopénica idiopática, neoplasias mieloproliferativas y en controles sanos utilizando un analizador hematológico automatizado; identificó en primer lugar que la displasia detectada por este método es lo suficientemente específica y sensible para actuar como una prueba de detección de SMD. Adicionalmente otros estudios también han demostrado la utilidad de los analizadores de hematología automatizados como herramientas de detección para discriminar entre pacientes con SMD y controles normales o pacientes con otros trastornos hematológicos. Los analizadores de hematología pueden medir varios parámetros plaquetarios, los cuales son buenos indicadores candidatos para SMD. Sin embargo, hasta donde sabemos, ningún estudio práctico ha investigado el valor

de los parámetros de plaquetas en SP de pacientes con SMD obtenidos utilizando analizadores de hematología automatizados, como herramientas de detección(47).

2.6 Estado del arte

En la actualidad los esfuerzos por generar avances que puedan ayudar a los pacientes con SMD, se han direccionado en una mejor comprensión de la fisiopatología de los SMD; lo cual está dando como resultado nuevos enfoques de investigación para todos los subgrupos de pacientes con SMD. Se están realizando múltiples ensayos de fase III para estos pacientes. (48).

Además, en los últimos 10 años, la Administración de Alimentos y Medicamentos en Estados Unidos (FDA) por sus siglas en inglés, ha aprobado el uso de tres terapias para SMD, además de varios grupos que caracterizan genéticamente los SMD en mayor medida que antes (49).

Estos nuevos datos genéticos han transformado nuestra comprensión de la fisiopatología de los SMD, implicando nuevas vías biológicas y proporcionando una nueva herramienta para diseccionar las complejidades de los fenotipos de SMD. Se han descubierto mutaciones recurrentes que afectan a varios procesos celulares críticos, incluido el empalme del RNA, la regulación epigenética de la expresión génica, la respuesta al daño del DNA y la señalización de la tirosina quinasa. Las mutaciones específicas en estas vías se han relacionado con distintos fenotipos morfológicos y clínicos(50).

Los ensayos clínicos más recientes se han centrado en estrategias de tratamiento individualizadas y adaptadas al riesgo para SMD; sin embargo, los resultados de estos ensayos aún no se han publicado. La investigación futura se desarrollará a partir de varias terapias novedosas que actualmente se están evaluando en estos ensayos clínicos para el tratamiento de los SMD. Esto incluye el inhibidor de la telomerasa imetelstat, el inhibidor del factor proil hidroxilasa inducible por hipoxia

oral roxadustat y el anticuerpo anti-CD47 magrolimab , estos dentro de algunos de los que están estudio (49).

Teniendo en cuenta estudios recientes realizados en Colombia tras estratificar a los pacientes por el Sistema Internacional Pronóstico IPSS por sus siglas en inglés, la mayoría de los pacientes se encontraban en el grupo de riesgo intermedio, con 21 (34,4%) y 16 (26,2%) pacientes en el intermedio-1 e intermedio-2. Casi el 80% de los pacientes presentaba una o más comorbilidades, siendo la más frecuente la cardiopatía (30,5%). La atención de apoyo con agentes estimulantes de la eritropoyesis fue el tratamiento de primera línea más común (61,4 %), seguido de la terapia de quelación de hierro (6,2 %). Cuarenta y ocho (50%) pacientes fueron tratados con agentes hipometilantes (HMA) que incluyen azacitidina (43,7%) y decitabina (6,3%). Entre los pacientes tratados con HMA, el 49,6% estaban en los grupos IPSS de riesgo intermedio-2 y alto. Dos pacientes se sometieron a trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas. Solo los pacientes tratados con HMA y quimioterapia con citarabina lograron una respuesta completa (11,5 %) (8).

2.6.1 Estado actual del SMD en Colombia

Existen muy pocos datos epidemiológicos y estadísticos en relación con los SMD en Colombia, sin embargo, se han reportado algunos estudios que indican una media de edad de 71 a 75 años, lo cual es un poco más alto que o reportado por la OMS; lo cual se puede relacionar con la situación que en Colombia y en general en Latinoamérica el acceso consultas especializadas es demorado y puede en muchos casos representar un reto para el paciente. En cuanto al género, en la mayoría de los estudios reportan un predominio del sexo masculino entre el 55% al 62%. Por otro lado, la distribución de casos de acuerdo con la estratificación de riesgo reportada por el IPSS-R muestra más casos de riesgo bajo e intermedio, seguido de riesgo muy bajo y alto riesgo, siendo muy similar a la estadística mundial. Desde el punto de vista terapéutico, el uso de la eritropoyetina, con una media de dosis de 10 mil unidades semanales, es el tratamiento más empleado de acuerdo a los

reportes, observando altas tasas de respuestas a dosis intermedias entre 8 mil y 12 mil unidades semanales(33).

Un estudio retrospectivo realizado en Colombia, entre el año 2013 y 2019 el cual incluyó 96 pacientes, mostro que la media de la edad para esta patología en el país es de 75 años y más del 50% son hombres. En este mismo estudio y teniendo en cuenta el sistema internacional de puntaje pronóstico IPSS el porcentaje más alto de los pacientes estudiados se encontraban en el grupo clasificado como riesgo alto. La primera línea de tratamiento más común fue el cuidado de soporte con agentes estimulantes de la eritropoyesis (51). En nuestro medio es necesario implementar estudios que contribuyan a un mejor seguimiento de estas patologías, por su riesgo de evolución a LMA.

3. Componente técnico del proyecto

3.1. Objetivos

3.1.1. Objetivo General

Evaluar los índices y la morfología plaquetaria como posibles biomarcadores de valor pronóstico en pacientes con SMD.

3.1.2. Objetivos específicos

- Evaluar los índices plaquetarios (volumen plaquetario medio (PM), ancho de distribución plaquetaria (ADP), plaquetocrito (PL) y evaluación de la fracción de plaquetas reticuladas o inmaduras) en muestras de SP de individuos sanos y pacientes diagnosticados con SMD.

- Analizar las características morfológicas de las plaquetas en muestras de SP de individuos sanos y pacientes diagnosticados con SMD.

- Correlacionar los índices y la morfología plaquetarios en SP con variables de valor diagnóstico y pronóstico para pacientes con SMD.

3.2. Metodología

3.2.1. Selección de pacientes y muestras

Se pretende realizar un estudio multicéntrico prospectivo que se realizará en el departamento de hematología de las instituciones participantes en el estudio, en el cual se incluirán pacientes que sean diagnosticados con SMD de novo o en progresión de la enfermedad; así mismo se incluirán -controles sanos los cuales harán parte del grupo control. Los pacientes y controles serán reclutados para el estudio previo diligenciamiento del formato de consentimiento informado. Adicionalmente se tendrán en cuenta criterios de inclusión y exclusión para los dos grupos del estudio (donantes voluntarios sanos y pacientes con SMD).

Para las muestras control se tendrán en cuenta individuos con reportes normales de hemograma y sin un diagnóstico de patología hematológica previa o al momento de ingresar al estudio. Para el grupo de pacientes con SMD se tendrán en cuenta los pacientes con SMD de novo o en progresión de la enfermedad, con el fin de recolectar los datos clínicos y biológicos a partir de sus historias clínicas.

En este sentido se plantean los siguientes criterios para tener en cuenta para incluir o excluir pacientes del estudio y que se resumen en la tabla 3:

- **Criterios de inclusión de pacientes con SMD:** Se tendrán en cuenta todos los pacientes que cumplan con tener edad mayor de 18 años, un diagnóstico de novo de SMD o con SMD en progresión; basado en exámenes de sangre y médula ósea, según la clasificación de la Organización Mundial de la Salud de 2016, aceptar su participación en el estudio.
- **Criterios de exclusión de pacientes con SMD:** Pacientes con citopenias periféricas no relacionadas con afectación medular, púrpura trombocitopénica autoinmune PTI secundaria no relacionada con SMD (p.

ej., casos relacionados con neoplasias malignas, infección viral crónica, inmunodeficiencia primaria o fármacos).

- **Criterios de inclusión grupo control:** individuos mayores de 18 años con recuentos normales en sangre periférica.
- **Criterios de exclusión grupo control:** Pacientes con antecedentes de citopenias o algún tipo de neoplasia hematológica.

Tabla 5: Criterios de inclusión y exclusión de los grupos de pacientes incluidos en el estudio.

	Pacientes con SMD	Grupo control
Criterios de inclusión	Edad mayor a 18 años. Diagnóstico de SMD. Aceptar participar en el estudio.	Edad mayor a 18 años. No tener diagnóstico de SMD. Aceptar participar en el estudio. Hemograma dentro de los parámetros normales.
Criterios de exclusión	Citopenias no asociadas al SMD. PTI secundaria no relacionada con SMD	Diagnóstico de citopenia previa al estudio. Diagnóstico de neoplasia hematológica previa al estudio. Hemograma anormal.

Tabla 5: Criterios de inclusión y exclusión de los grupos de pacientes incluidos en el estudio.

Para este estudio se tendrán en cuenta las muestras de SP tomadas a los pacientes como parte de su diagnóstico de SMD, procesadas en contadores hematológicos con la tecnología para realizar: recuento de plaquetas, volumen plaquetario, ancho de distribución plaquetaria y plaquetas reticuladas.

Adicionalmente para tener datos significativos y evitar o disminuir el sesgo se evaluarán con la historia clínica las siguientes características de los pacientes: edad del paciente, género, niveles de hemoglobina, recuento de leucocitos, porcentaje de

blastos en MO (cuando se cuente con esta información) y en SP, niveles de creatinina y bilirrubina, duración del SMD, cánceres previos y su tratamiento, morfología del SDM, número e intensidad de las citopenias, puntaje IPSS, anomalías citogenéticas y tratamiento previo.

3.2.2. Metodología para el objetivo N.º 1: *Evaluar los índices plaquetarios (volumen plaquetario medio (PM), ancho de distribución plaquetaria (ADP), plaquetocrito (PL) y evaluación de la fracción de plaquetas reticuladas o inmaduras) en muestras de SP de individuos sanos y pacientes diagnosticados con SMD.*

Para cumplir con este objetivo se tendrán en cuenta los datos obtenidos por el servicio de hematología que cuente con equipos que hemograma y que dentro de este incluyan el resultado de plaquetas reticuladas. Se tomarán los resultados de los dos grupos de estudio (controles sanos y pacientes diagnosticados) del cuadro hemático, así como su historia clínica; teniendo en cuenta los valores de referencia nacionales y los criterios diagnósticos para síndrome mielodisplásico consignados en la última clasificación de la OMS de tumores de tejidos hematopoyéticos y linfoides.

Para dar cumplimiento a este objetivo se tendrá en cuenta el analizador hematológico con el que se analizan las muestras, debido a que el analizador debe tener dentro de sus parámetros las plaquetas reticuladas.

Los índices plaquetarios que se tendrán en cuenta para el estudio serán:

- Recuento de plaquetas (IBR: 150-450 x 10³ / µL).
- Volumen medio plaquetario (IBR: 8,3- 11,6 fL).
- Ancho de distribución de las plaquetas, desviación estándar (IBR: 9-17 fL).
- Plaquetas reticuladas o inmaduras (valor de referencia 1-6,5%).

Incluir las referencias bibliográficas de donde obtuviste los INRs

3.2.3. Metodología para el objetivo N° 2: *Analizar las características morfológicas de las plaquetas en muestras de SP de individuos sanos y pacientes diagnosticados con SMD.*

Para dar cumplimiento a este objetivo, a las muestras de SP se les realizará un extendido y coloración estándar de Wright, teniendo en cuenta las condiciones pre analíticas y analíticas consignadas en el consenso nacional para la estandarización del reporte de extendido de sangre periférica (47).

Los hallazgos morfológicos anormales en las plaquetas identificados en el análisis del frotis de SP se informarán de la siguiente manera:

- (i) Una descripción simple (no es claro)
- (ii) El uso de términos como presente o ausente
- (iii) Una determinación semicuantitativa (leve (+), moderada (++) , marcada (+++))
- (iv) Un porcentaje cuantitativo de las anomalías morfológicas: normal (<5%), leve (5-25%), moderada (25-50%), marcada (>50%).

La morfología plaquetaria será clasificada teniendo en cuenta tamaño e intensidad de la coloración ubicando los hallazgos en grupos de acuerdo con su identificación morfológica en las muestras de controles sanos y pacientes con síndrome mielodisplásico, como se muestra en la tabla 6 y esto teniendo en cuenta reportes previos (47).

Categorías de clasificación morfológica
Plaquetas gigantes (>8 µm), baja tinción = categoría I
Plaquetas grandes (4-8 µm), baja tinción = categoría II
Plaquetas normales (<4 µm), baja tinción = categoría III
Plaquetas gigantes (>8 µm), tinción normal = categoría VI
Plaquetas grandes (4-8 µm), tinción normal = categoría V
Plaquetas normales (<4 µm), tinción normal = categoría VI

Tabla 6: Clasificación morfológica de las plaquetas en relación con el tamaño y la intensidad de la tinción en controles sanos y pacientes con SMD.

3.2.4. **Metodología para el objetivo N° 3: *Correlacionar los índices plaquetarios en SP con variables de valor diagnóstico y pronóstico definidas para pacientes con SMD.***

Con los datos obtenidos a partir del desarrollo del objetivo número 1 de SP y las historias clínicas de los grupos control y grupo de pacientes, se realizará un análisis estadístico en el que se realizará una correlación descriptiva de las variables cuantitativas las cuales se muestran a continuación.

Variable estudiada	Grupo en el que se evalúa	Tipo de variable en estudio
Hemograma completo Recuento de plaquetas Ancho de distribución plaquetaria Volumen plaquetario Plaquetas reticuladas	Controles y pacientes	CUANTITATIVA
Edad del paciente	Controles y pacientes	CUANTITATIVA
Género	Controles y pacientes	CUALITATIVA
Porcentaje de blastos en MO	Pacientes	CUANTITATIVA
Porcentaje de blastos en SP	Pacientes	CUANTITATIVA
Niveles de creatinina	Controles y pacientes	CUANTITATIVA
Bilirrubina	Controles y pacientes	CUANTITATIVA
Duración del SMD	Pacientes	CUANTITATIVA
Tratamientos recibidos	Pacientes	CUANTITATIVA
Grado de displasia	Pacientes	CUANTITATIVA
Número de las citopenias	Pacientes	CUANTITATIVA
Intensidad de las citopenias	Pacientes	CUANTITATIVA
Anomalías citogenéticas	Pacientes	CUANTITATIVA
Puntaje IPSS	Pacientes	CUANTITATIVA

TABLA 7. Variables cuantitativas evaluadas en los 2 grupos de estudio.

3.2.5. Análisis de datos

Se realizará la distribución de los datos con una prueba de normalidad (test Shapiro- Wilk) posteriormente. Se analizará mediante un análisis univariante estándar; la probabilidad se estimará a partir de este y según la distribución de los datos obtenidos se realizarán los análisis correspondientes de acuerdo con los análisis estadísticos acordes al tipo de datos recolectados. Finalmente, todos los datos serán graficados con el software Graph Pad Prism6™. *p=0.05, **p=0.01, ***p=0.001.

3.3. Resultados esperados

Los índices plaquetarios evaluados y la morfología plaquetaria identificada en el estudio en sangre periférica como examen de rutina en los pacientes de SMD, son indicadores de valor pronostico que aportan al IPSS por lo tanto tienen un impacto en el tratamiento de los pacientes.

3.4. Posibles evaluadores:

Doctor Hugo Diez Ortega

3.5. Impactos de los resultados

Se espera con los resultados de este estudio impactar de manera positiva la manera en la cual se usan los índices plaquetarios, en el diagnóstico y pronóstico de los pacientes con SMD. Teniendo en cuenta que el hemograma se realiza como una prueba de rutina en los pacientes y que

este arroja datos sobre el número de plaquetas, volumen y composición de estas incluyendo el porcentaje de plaquetas inmaduras que se encuentran en circulación (plaquetas reticuladas). Así como permitir un acercamiento al estudio detallado de las plaquetas en estos pacientes con el fin de guiar a los clínicos con posibles biomarcadores de valor pronóstico que son accesibles; adicionalmente contribuir para incentivar más estudios de nuevos biomarcadores de aplicación clínica con estas poblaciones celulares, lo que le puede ofrecer a los pacientes un diagnóstico más oportuno y posiblemente un mejor pronóstico con mejores tasas de supervivencia y mejora frente al tratamiento.

4. Cronograma:

	2022										
Actividad	febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Sept	Octubre	Nov	Dic
Revisión de literatura											
Planteamiento de estudio											
Ajuste de objetivos y metodología											
Aprobación de proyecto											
Recolección de pacientes para el estudio											
Adquisición de datos de analizador hematológico											
Estudio de frotis de sangre periférica											
Correlacionar los índices plaquetarios en SP con variables de valor diagnóstico y pronóstico definidas para pacientes con SMD											
Análisis de datos											
Informe de resultados											

5. Presupuesto:

Rubro	Valor \$
Personal	40.000.000
Equipos	20.000.000
Uso de equipos y reactivos	15.000.000
Material bibliográfico	5.000.000
Publicaciones	1.000.000
Servicio técnico	600.000
Total	81.600.000

Bibliografía

1. Moldoveanu E, Moicean A, Vidulescu C, Marta D, Colita A. Apoptotic rate in patients with myelodysplastic syndrome treated with modulatory compounds of pro-apoptotic cytokines. *J Cell Mol Med.* 2003;7(3):313–21.
2. Gupta G. Myelodysplastic syndromes/neoplasms: recent classification system based on World Health Organization Classification of Tumors & International Agency for Research on Cancer for Hematopoietic and Lymphoid Tissues. *J Blood Med.* 2010;171.
3. Li W, Morrone K, Kambhampati S, Will B, Steidl U, Verma A. Thrombocytopenia in MDS: Epidemiology, mechanisms, clinical consequences and novel therapeutic strategies. *Leukemia.* 2016;30(3):536–44.
4. Chen Q, Chen Y, Zhang Y, Zhang L, Chen K, He Z, et al. Prognostic Impact of Platelet-Large Cell Ratio In Myelodysplastic Syndromes. *Front Oncol.* 2022;12(April):1–7.
5. Strapatsas J, Barbulescu EC, Lauseker M, Kaivers J, Hildebrandt B, Nachtkamp K, et al. Influence of platelet count at diagnosis and during the course of disease on prognosis in MDS patients. *Ann Hematol.* 2021 Oct 1;100(10):2575–84.
6. Kantarjian H, Giles F, List A, Lyons R, Sekeres MA, Pierce S, et al. The Incidence and Impact of Thrombocytopenia in Myelodysplastic Syndromes. *Cancer [Internet].* 2007;109:1705–19. Available from: www.interscience.wiley.com
7. Al Ameri A, Jabbour E, Garcia-Manero G, O'brien S, Faderl S, Ravandi F, et al. Significance of Thrombocytopenia in Myelodysplastic Syndromes: Associations and Prognostic Implications. 2011;
8. Sossa CL, Abello V, Peña AM, Salazar LA, Rosales M, Luna-Gonzalez M, et al. Clinical Features of Myelodysplastic Syndromes in a Colombian Population: Retrospective Analysis of Two Large Referral Centers. *Blood.* 2020;136(Supplement 1):5–6.
9. Kantarjian H, O'brien S, Ravandi F, Cortes J, Shan J, Bennett JM, et al. Proposal for a New Risk Model in Myelodysplastic Syndrome That Accounts for Events Not Considered in the Original International Prognostic Scoring System. Available from: www.interscience.wiley.com
10. Li J. Myelodysplastic syndrome hematopoietic stem cell. *UICC Int J Cancer IJC.* 2013;133:525–33.
11. Virginia M, Ana L. Síndromes mielodisplásicos. *Soc argentina Hematol.* 2012;(9):395–416.
12. Fenaux P, Platzbecker U, Ades L. How we manage adults with myelodysplastic syndrome. *Br J Haematol.* 2020;189(6):1016–27.

13. Wang C, Yang Y, Gao S, Chen J, Yu J, Zhang H, et al. Immune dysregulation in myelodysplastic syndrome: Clinical features, pathogenesis and therapeutic strategies. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2018 Feb 1;122:123–32.
14. Arber DA, Hasserjian RP. Reclassifying myelodysplastic syndromes: what's where in the new WHO and why [Internet]. 2015. Available from: <http://ashpublications.org/hematology/article-pdf/2015/1/294/1250659/bep00115000294.pdf>
15. Zeidan AM, Shallis RM, Wang R, Davidoff A, Ma X. Epidemiology of myelodysplastic syndromes: Why characterizing the beast is a prerequisite to taming it. *Blood Rev*. 2019 Mar 1;34:1–15.
16. Gascoyne RD, Campo E, Jaffe ES, Chan WC, Chan JKC, Rosenwald A, Stein H SS. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues Click the watermark of any page >>> To go back to the first page of the chapter. 2017;291–7.
17. Foran JM, Shammo JM. Clinical presentation, diagnosis, and prognosis of myelodysplastic syndromes. *Am J Med [Internet]*. 2012;125(7 SUPPL.):S6–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjmed.2012.04.015>
18. Steensma DP. Myelodysplastic Syndromes: Diagnosis and Treatment. *Mayo Clin Proc [Internet]*. 2015;90(7):969–83. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mayocp.2015.04.001>
19. Barzi A. Myelodysplastic syndromes: A practical approach to diagnosis and treatment. Available from: www.ccjm.org
20. Giagounidis A, Haase S. Where Does Morphology Fit in Myelodysplastic Syndrome Diagnosis in the Era of Molecular Testing? 2019;34(2020):321–31.
21. Gangat N, Patnaik MM, Tefferi A. Myelodysplastic syndromes: Contemporary review and how we treat. *Am J Hematol*. 2016;91(1):76–89.
22. Ilenia Sangiorgio VF, Rizvi H, Calaminici M. Diagnostic approach to myelodysplastic syndromes and related neoplasms. *Diagnostic Histopathol*. 2021;29(9):380–9.
23. Hasserjian RP. Myelodysplastic Syndrome Updated. 2019;02114:7–13.
24. Weinberg OK, Hasserjian RP. The current approach to the diagnosis of myelodysplastic syndromes☆. *Semin Hematol [Internet]*. 2019;56(1):15–21. Available from: <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2018.05.015>
25. Weinberg OK, Hasserjian RP. The current approach to the diagnosis of myelodysplastic syndromes. *Semin Hematol [Internet]*. 2019;56(1):15–21. Available from: <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2018.05.015>
26. Petzer V, Theurl I, Weiss G, Wolf D, Anderson G, Marx JJM. Environmental Aspects in Myelodysplastic Syndrome. *Mol Sci [Internet]*. 2021; Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms22105202>

27. Steensma DP, Bejar R, Jaiswal S, Lindsley RC, Sekeres MA, Hasserjian RP, et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. *Blood* [Internet]. 2015;126(1):9–16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2015-03-631747>
28. Malcovati L, Cazzola M. The shadowlands of MDS: Idiopathic cytopenias of undetermined significance (ICUS) and clonal hematopoiesis of indeterminate potential (CHIP). *Hematol (United States)*. 2015;2015(1):299–307.
29. Van Dongen J, Lhermitte L, Bö Ttcher S, Almeida J, Van Der Velden V, Flores-Montero J, et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. 1908; Available from: www.nature.com/leu
30. Haferlach T, Nagata Y, Grossmann V, Okuno Y, Bacher U, Nagae G, et al. Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia* [Internet]. 2014;28:241–7. Available from: www.nature.com/leu
31. Kennedy JA, Ebert BL. Clinical implications of Genetic mutations in Myelodysplastic syndrome. *J Clin Oncol*. 2017;35(9):968–74.
32. Kantarjian HM, Kadia TM, Dinardo CD, Mary ;, Welch A, Ravandi F. Acute Myeloid Leukemia: Treatment and Research Outlook for 2021 and the MD Anderson Approach. *Cancer*. 2021;127:1186–207.
33. Serrano Casas JC, Varón Jaimés CR, Govin AT, Celis G, Maldonado LK, Pacheco J. Patrón clínico y citogenético en pacientes con síndrome mielodisplásico en Cúcuta (Norte de Santander, Colombia). *Rev Colomb Hematol y Oncol*. 2018;5(1):10–6.
34. Bewicke-Copley F, Arjun Kumar E, Palladino G, Korfi K, Wang J. Applications and analysis of targeted genomic sequencing in cancer studies. *Comput Struct Biotechnol J* [Internet]. 2019;17:1348–59. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.10.004>
35. Platzbecker U, Kubasch AS, Homer-Bouthiette C, Prebet T. Current challenges and unmet medical needs in myelodysplastic syndromes. *Leukemia* [Internet]. 2021;35(8):2182–98. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41375-021-01265-7>
36. Malcovati L, Hellström E, Hellström-Lindberg H, Bowen D, Adès L, Adès A, et al. Diagnosis and treatment of primary myelodysplastic syndromes in adults: recommendations from the European LeukemiaNet. 2013; Available from: <http://ashpublications.org/blood/article-pdf/122/17/2943/1370050/2943.pdf>
37. Invernizzi R, Quaglia F, Porta D. Importance of classical morphology in the diagnosis of myelodysplastic syndrome. *Mediterr J Hematol Infect Dis* www.mjhid.org [Internet]. 2015;7(1):2015035. Available from: <http://dx.doi.org/10.4084/MJHID.2015.035>

38. Bělohávková P. Treatment strategies for myelodysplastic syndrome in 2021. 2021;67(3):150–5. Available from: www.casopisvnitrnilekarstvi.cz
39. Efficacy of growth factors compared to other therapies for low-risk myelodysplastic syndromes.
40. Jädersten M, Malcovati L, Dybedal I, Della Porta MG, Invernizzi R, Montgomery SM, et al. Erythropoietin and granulocyte-colony stimulating factor treatment associated with improved survival in myelodysplastic syndrome. *J Clin Oncol*. 2008;26(21):3607–13.
41. Moscardó A, Latorre A, Santos MT, Bonanad S, Vallés J. Platelet function in malignant hematological disorders. *Curr Opin Oncol*. 2015;27(6):522–31.
42. Hill CN, Hernández-Cáceres MP, Asencio C, Torres B, Solis B, Owen GI. Deciphering the Role of the Coagulation Cascade and Autophagy in Cancer-Related Thrombosis and Metastasis. *Front Oncol*. 2020;10(December):1–25.
43. Bryan J, Jabbour E, Prescott H, Kantarjian H. Thrombocytopenia in patients with myelodysplastic syndromes. 2010;
44. Basood M, Oster HS, Mittelman M. Thrombocytopenia in Patients with Myelodysplastic Syndromes: Still an Unsolved Problem. *Mediterr J Hematol Infect Dis* [Internet]. 2018;10(1):2018046. Available from: www.mjhid.org
45. Vijenthira A, Premkumar D, Callum J, Lin Y, Wells RA, Chodirker L, et al. The management and outcomes of patients with myelodysplastic syndrome with persistent severe thrombocytopenia: An observational single centre registry study. *Leuk Res*. 2019 Jan 1;76:76–81.
46. Bourgeois E, Caulier MT, Rose C, Dupriez B, Bauters F, Fenaux P. Role of splenectomy in the treatment of myelodysplastic syndromes with peripheral thrombocytopenia: a report on six cases [Internet]. Vol. 15, *Leukemia*. 2001. Available from: www.nature.com/leu
47. Masutani R, Ikemoto T, Maki A, Tanada H, Iwatani Y, Watanabe M, et al. Mean platelet component and mean platelet volume as useful screening markers for myelodysplastic syndrome. *Heal Sci Reports*. 2018 May 1;1(5).
48. Garcia-Manero G, Chien KS, Montalban-Bravo G. Myelodysplastic syndromes: 2021 update on diagnosis, risk stratification and management. *Am J Hematol*. 2020;95(11):1399–420.
49. Zamora DI, Patel GS, Grossmann I, Rodriguez K, Soni M, Joshi PK, et al. Myelodysplastic Syndromes and Modalities of Treatment: An Updated Literature Review. 2021;
50. R. Coleman Lindsley Benjamin L. Ebert. Molecular Pathophysiology of Myelodysplastic Syndromes. *Annu Rev*. 2013;8:27–47.

51. Sossa CL, Abello V, Peña AM, Salazar LA, Rosales M, Luna-Gonzalez M, et al. Clinical Features of Myelodysplastic Syndromes in a Colombian Population: Retrospective Analysis of Two Large Referral Centers. *Blood*. 2020 Nov 5;136(Supplement 1):5–6.