

## Epidemiología del síndrome mielodisplásico en Bolivia

### RESUMEN

**Antecedentes:** el síndrome mielodisplásico es una enfermedad clonal de las células madre hematopoyéticas, frecuente en personas mayores de 60 años; se caracteriza por una hematopoyesis inefectiva que conduce a citopenias periféricas progresivas. Los estudios de sangre periférica y médula ósea muestran, además, citopenias, dishematopoyesis y blastos en cualquiera de las líneas mieloides. Para la clasificación y pronóstico, según la Organización Mundial de la Salud y el *Revised International Prognostic Scoring System* (IPSS-R), se requiere hemograma, estudio morfológico de médula ósea y sangre periférica, porcentaje de blastos, estudio citoquímico (Perls) y estudio citogenético.

**Objetivo:** describir los resultados utilizando un método estándar que incluyó la hibridación fluorescente *in situ* en muestras de pacientes con síndrome mielodisplásico en Bolivia.

**Material y método:** estudio retrospectivo en el que se identificaron 52 casos de síndrome mielodisplásico, procedentes de distintos departamentos de Bolivia, sin antecedente personal de quimioterapia o radioterapia. Los casos estudiados se diagnosticaron de enero de 2014 a septiembre de 2015 y las muestras se enviaron a la Unidad de Biología Celular de la Universidad Mayor de San Andrés, en Bolivia.

**Resultados:** el mayor número de casos apareció en pacientes mayores de 60 años, con ligero predominio del sexo femenino. Las alteraciones citogenéticas más frecuentes fueron del(20q), del(5q) y trisomía-8. Estos resultados son característicos de la región boliviana, porque la frecuencia de las alteraciones citogenéticas es diferente, comparada con estudios reportados en Brasil, Japón y Estados Unidos.

**Conclusión:** la hibridación fluorescente *in situ* tiene la ventaja de poder identificar alteraciones citogenéticas específicas, con mayor sensibilidad que la citogenética clásica, en muestras que no tengan tasa mitótica elevada; además, puede realizarse en células en interfase.

**Palabras clave:** síndrome mielodisplásico, epidemiología, hibridación fluorescente *in situ*, FISH.

Ricardo Amaru  
Teddy Quispe  
Hortencia Miguez  
Gina Torres  
Rosario Peñaloza  
Ariel Amaru  
Heriberto Cuevas

Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia. Programa La UMSA contra el cáncer, Facultad de Medicina, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia.

## Epidemiology of myelodysplastic syndrome in Bolivia

### ABSTRACT

**Background:** Myelodysplastic syndrome is a clonal disease of hematopoietic stem cells, and it is frequent in patients over the age of 60. It is characterized by an ineffective hematopoiesis, leading to progressive cytopenias. Studies carried on peripheral blood and bone marrow

Recibido: 21 de julio 2015

Aceptado: 13 de octubre 2015

**Correspondencia:** Dr. Ricardo Amaru  
amaru.ricardo@icloud.com

### Este artículo debe citarse como

Amaru R, Quispe T, Miguez H, Torres G y col. Epidemiología del síndrome mielodisplásico en Bolivia. Rev Hematol Mex 2015;16:281-287.

samples displayed cytopenias, dishematopoyesis and blasts in any of the myeloid lineages. According to WHO and IPSS-R system, a complete blood count, morphological studies of both bone marrow and peripheral blood, blasts percentage, cytochemical study (Perls) and a cytogenetic study are required in order to provide an adequate classification and prognosis.

**Objective:** To describe the results using a standard method including fluorescent *in situ* hybridization in samples of patients with myelodysplastic syndrome in Bolivia.

**Material and method:** A retrospective study was done identifying 52 cases of myelodysplastic syndrome from several cities of Bolivia, without personal history of chemotherapy or radiotherapy. The cases studied were diagnosed from January 2014 to September 2015 and samples were sent to Cell Biology Unit of Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia.

**Results:** Patients older than 60 years presented an increased number of cases, reflecting a predominance of female gender. The most common cytogenetic abnormalities were del(20q), del(5q) and trisomy-8. These results are characteristic of Bolivian region since the frequency of cytogenetic abnormalities is different compared to studies reported in Brazil, Japan and the United States.

**Conclusion:** One to three cytogenetic disorders were identified in 44% of the analyzed samples. This figure agrees with that reported in scientific literature.

**Key words:** myelodysplastic syndrome, epidemiology, fluorescent *in situ* hybridization, FISH.

## ANTECEDENTES

Los síndromes mielodisplásicos son un grupo heterogéneo de trastornos clonales de las células madre hematopoyéticas que predomina en pacientes adultos y ancianos.<sup>1,2</sup> La incidencia en Estados Unidos es de 3 a 4 por 100,000 habitantes; sin embargo, esta cifra puede aumentar de 7 a 35 por 100,000 en personas mayores de 60 años<sup>3</sup> y a 50 por 100,000 habitantes mayores de 70 años.<sup>4</sup> En Bolivia no existen datos registrados y probablemente estas enfermedades sean subdiagnosticadas.

La mielodisplasia es el resultado de la transformación de una célula madre mielóide que conlleva una serie de pasos que incluyen cambios citogenéticos o mutaciones génicas,<sup>5</sup> además

de cambios epigenéticos (hipermetilaciones) en etapas avanzadas.<sup>6,7</sup> Las anomalías inmunológicas, las alteraciones del microambiente medular, como secreción anómala de citocinas, y las alteraciones en el metabolismo férrico también podrían contribuir en este proceso. En consecuencia, por lo general se produce mayor proliferación celular acompañada de apoptosis acentuada y de trastornos en la diferenciación celular. Por ello, los síndromes mielodisplásicos se caracterizan por una inefectiva hematopoyesis; llegan a producirse citopenias progresivas en la sangre periférica, con médula ósea normocelular o hiper celular y con progresión a leucemia mielóide aguda en un tercio de los casos.<sup>1</sup>

El origen de los síndromes mielodisplásicos primarios es desconocido, aunque existen al-

gunos factores ambientales, como la exposición al benceno, solventes, pesticidas o tabaco, que podrían favorecer su evolución; mientras que en los síndromes mielodisplásicos secundarios hay antecedentes de exposición a radiación o quimioterapia (agentes alquilantes y otros fármacos citotóxicos).<sup>8,9</sup>

Para su diagnóstico, los síndromes mielodisplásicos deben tener alteraciones morfológicas dishematopoyéticas mayores a 10% en uno o más de los elementos formes de la línea mieloide (megacariocítica, granulocítica y monocítica); mientras que en los otros linajes se conservan las características normales. El historial médico proporciona información para el diagnóstico diferencial, como la prescripción de medicamentos, ingestión de alcohol u otras drogas, así como la exclusión de otras enfermedades, entre ellas, trastornos autoinmunológicos, insuficiencia renal, infecciones crónicas, anemia aplásica y hemoglobinuria paroxística nocturna.<sup>10</sup> Entre las pruebas de laboratorio que ayudan a excluir y coadyuvar al diagnóstico de síndromes mielodisplásicos están el estudio inmunofenotípico por citometría de flujo, lactato deshidrogenasa, ferritina, transferrina, saturación de la transferrina, recuento de reticulocitos y concentración de vitamina B<sub>12</sub>, ácido fólico, eritropoyetina y creatinina.

En aproximadamente 40 a 70% de los pacientes con síndromes mielodisplásicos primarios y en más de 80% de los pacientes con síndromes mielodisplásicos secundarios hay alteraciones citogenéticas detectables.<sup>11</sup> Entre las alteraciones citogenéticas con buen pronóstico están la delección en 5q aislada (síndrome 5q-), la delección en el brazo largo del cromosoma 20 (20q-) y la pérdida del cromosoma (Y); en cambio, la delección en (7q), pérdida completa del cromosoma 7 o 5 y pacientes con cariotipos complejos se asocian con una evolución más agresiva con poca respuesta a tratamientos convencionales.<sup>12-14</sup>

El pronóstico de los pacientes con síndromes mielodisplásicos es muy heterogéneo y requiere un sistema de pronóstico que permita la estratificación y que oriente al tratamiento. El sistema utilizado con mayor frecuencia es el *Revised International Prognostic Scoring System* (IPSS), que se propuso en 1997<sup>15</sup> y se actualizó en 2012 (IPSS-R). Este último incluye una nueva puntuación citogenética, porcentaje de blastos en la médula ósea, valores de hemoglobina, recuento de plaquetas y conteo absoluto de neutrófilos.<sup>16,17</sup>

En este trabajo se reportan los primeros resultados al utilizar un método estándar que incluyó la hibridación fluorescente *in situ* (FISH) en muestras de pacientes con síndromes mielodisplásicos procedentes de los distintos departamentos de Bolivia; además, compara los datos obtenidos con los reportes de otros estudios realizados en diversas regiones.

## MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo en el que se identificaron 52 casos de síndrome mielodisplásico procedentes de los distintos departamentos de Bolivia, de los que 27 (52%) eran mujeres, con edad media de 65 años (30 a 92 años), sin antecedente personal de quimioterapia o radioterapia. Los casos estudiados se diagnosticaron de enero de 2014 a septiembre de 2015 y las muestras se enviaron a la Unidad de Biología Celular de la Universidad Mayor de San Andrés, en Bolivia.

### Estudios de laboratorio

Para el diagnóstico de los síndromes mielodisplásicos, las muestras siguieron este flujograma: 1) hemograma con contador automático (ABX Micro 60, Francia); 2) estudio morfológico de frotis de sangre venosa periférica y aspirado de médula ósea con tinción de May-Grunwald-Giemsa, de acuerdo con los criterios de la Organización Mundial de la Salud 2008; 3)

estudio inmunofenotípico para identificar las poblaciones clonales y patrones de maduración anormales en la línea granulocítica; 4) tinción de Perls en frotis de médula ósea y 5) estudio de las alteraciones citogenéticas más frecuentes con técnica de hibridación fluorescente *in situ*.

**Hibridación fluorescente *in situ* (FISH)**

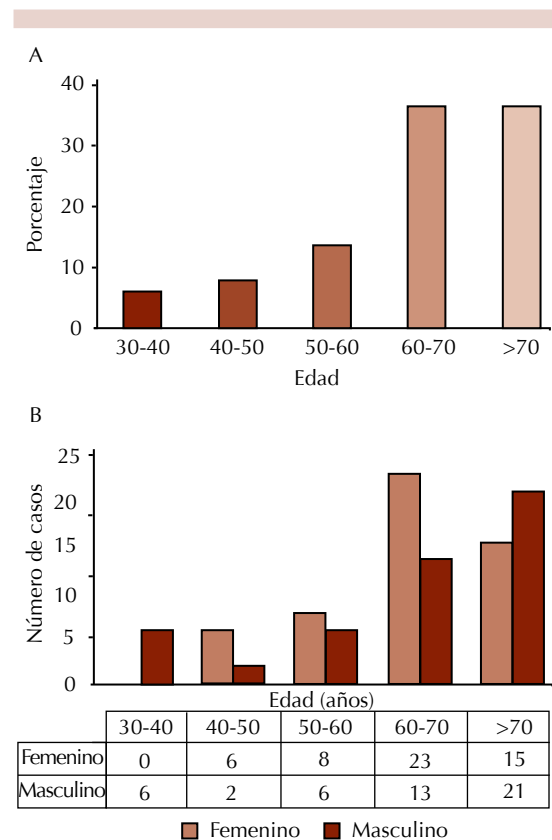
Se realizó esta técnica para detectar -5/5q- (VysisLSI EGR1/D5S23, D5S721), -7/7q-(VysisLSI D7S486/VysisCEP 7), +8(VysisCEP 8), -Y(Vysis CEPY-DYZ1) y del(20q) (VysisLSI D20S108) con materiales adquiridos a la empresa Abbott Molecular, de acuerdo con el protocolo descrito en los prospectos de cada sonda. Las muestras de la médula ósea se recolectaron en tubos con ácido etildiaminotetraacético y mantenidas a temperatura ambiente hasta su análisis. A cada mL de la muestra se le adicionaron 9 mL de cloruro de potasio y se incubó durante 15 minutos a 37°C, se centrifugó a 2,000 rpm durante 10 minutos. Al sedimento celular obtenido se le adicionaron 5 mL de metanol/ácido acético (3:1) para su centrifugado posterior a 2,000 rpm durante 10 minutos. Este último paso se repitió tres veces. Finalmente se prepararon los extendidos sobre un portaobjetos, por goteo, dejando caer dos gotas de cada muestra.

Las placas se dejaron a 37°C durante 24 horas; pasado este tiempo, se hibridaron con la sonda respectiva en hibridador ThermoBrite (Abbott Molecular) con el siguiente protocolo: sondas locus específico 73°C durante un minuto, 37°C durante 16 horas; sondas centroméricas 75°C durante un minuto y 42°C durante 16 horas. Se analizaron 200 núcleos interfásicos, mediante microscopio de fluorescencia Olympus BX53 y el programa Isis (MetaSystems). Los valores umbrales para determinar la positividad fueron: -5/del5q (>5%), -7/del7q (>2%), -8 (>5%), -Y (>5%) y del20q (>2%), de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.

**RESULTADOS**

Se estudiaron 52 pacientes con síndromes mielodisplásicos provenientes de todo el territorio nacional boliviano; 52% del total correspondió al sexo femenino. Los límites de edad fueron 30 y 92 años; 27% de los pacientes eran menores de 60 años, 37% tenía 60 a 70 años y 37% eran mayores de 70 años (Figura 1 y Cuadro 1).

Se identificaron una a tres alteraciones citogenéticas en 44% de las muestras analizadas mediante FISH. Las alteraciones citogenéticas identificadas fueron: del(20q) en 35%, del(5q) en 24%, trisomía -8 en 16%, del(7q) en 11%, pérdida del cromosoma



**Figura 1.** Síndrome mielodisplásico distribuido por edad y género (n=52).

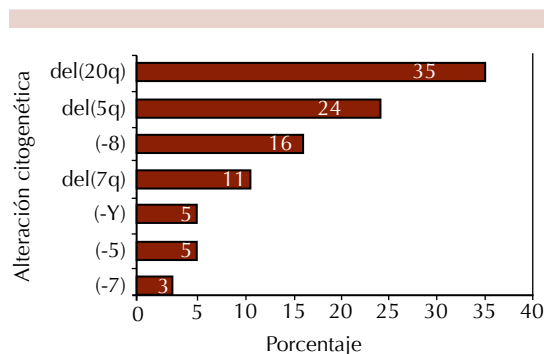
**Cuadro 1.** Características demográficas y clínicas de los síndromes mielodisplásicos

Característica	Pacientes	
	Número	%
Número de pacientes	52	
Edad (años)		
Media	65	
Intervalo	30-92	
30-60	16	30
61-70	18	35
≥71	18	35
Recuento leucocitario (/mm <sup>3</sup> )		
Media	4,400	
Intervalo	1,100-17,400	
Neutrófilos (/mm <sup>3</sup> )		
Media	2743	
Intervalo	200-13,500	
Hemoglobina (g/dL)		
Media	9.6	
Intervalo	3.5-14.5	
Plaquetas (μL)		
Media	188,261	
Intervalo	27,000-561,000	
Blastos en médula ósea (%)		
Media	3	
Intervalo	1 a 13	
Perls (n=49)		
Grado I	25	51
Grado II	17	35
Grado III	7	14
Sideroblastos anillados	4	8

soma-Y en 5%, pérdida del cromosoma -5 en 5% y pérdida del cromosoma -7 en 3% (Figura 2).

Los datos del hemograma reportaron que el recuento leucocitario promedio fue de 4,400/mm<sup>3</sup>, con intervalo de 1,100 a 17,400/mm<sup>3</sup>; la media del recuento de los neutrófilos fue 2,743/mm<sup>3</sup> con intervalo de 200-13,500/mm<sup>3</sup>; la concentración de hemoglobina media fue de 9.6 g/dL con intervalo de 3.5-14.5 g/dL y las plaquetas tuvieron una media de 188,000/μL con intervalo de 27,000 a 561,000/μL (Cuadro 1).

El promedio del porcentaje de blastos reportados por citometría de flujo fue de 3% con intervalo de



**Figura 2.** Alteraciones citogenéticas específicas identificadas por hibridación fluorescente *in situ* (FISH) en síndrome mielodisplásico (n=52).

1 a 13%. Todas las muestras analizadas tuvieron un patrón de maduración anormal en la línea granulocítica cuando se marcaron con CD13/CD11b/CD16/CD45 (Cuadro 1).

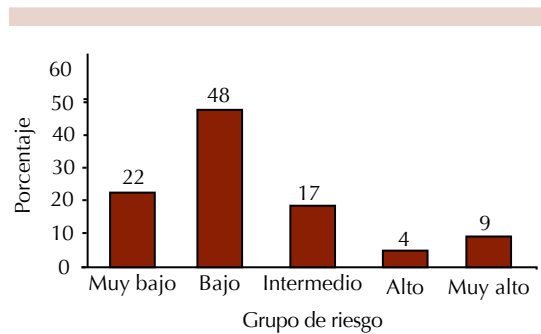
Mediante tinción de Perls se determinó que 51% de las muestras tuvo depósitos de hierro disminuidos (grado I), 35% eran normales (grado II) y 14% aumentados (grado III); también se identificaron sideroblastos anillados en 8% de los casos (Cuadro 1).

El cálculo del pronóstico y riesgo según el sistema IPSS-R evidenció que 22% correspondió a riesgo muy bajo, 48% a riesgo bajo, 17% a riesgo intermedio, 4% a riesgo alto y 9% a riesgo muy alto (Figura 3).

## DISCUSIÓN

La hibridación fluorescente *in situ* tiene la ventaja de identificar alteraciones citogenéticas específicas, con mayor sensibilidad que la citogenética clásica, en muestras que no tengan tasa mitótica elevada; además, puede realizarse en células en interfase.

En nuestro estudio, la edad media de los pacientes fue de 65 años, con intervalo de ma-



**Figura 3.** Grupo de riesgo *Revised International Prognostic Scoring System* (IPSS-R) (n=23).

nifestación de estas alteraciones de 30 a 92 años y una relación directamente proporcional con el aumento de la edad; datos similares se reportan en Japón, Alemania y Estados Unidos.<sup>3,13</sup>

Para identificar las alteraciones citogenéticas más frecuentes en los síndromes mielodisplásicos se utilizaron tres sondas locus específico que hibridaron las siguientes regiones en diferentes cromosomas: 5q31, 7q31, 20q12; y tres sondas centroméricas para identificar trisomía 8, pérdida del cromosoma (Y) y pérdida del cromosoma 7.

Con este grupo de sondas se identificaron una a tres alteraciones citogenéticas en 44% de las muestras analizadas. Este dato concuerda con lo reportado en la bibliografía científica, que corresponde a 29-70%, según el país en estudio.<sup>11-13</sup> Nuestros datos reflejan un ligero predominio del sexo femenino, con 52%; dato que difiere de los reportados por Rollinson y Matsuda en Estados Unidos (46%), Japón (47%) y Alemania (49%).

Las alteraciones citogenéticas asociadas con síndromes mielodisplásicos son varias; según Schanz (2012), existen cambios citogenéticos de buen y mal pronóstico. Los tipos de alteraciones citogenéticas son características de cada país; en los pacientes estudiados encontramos que la delección 20q12 es la más frecuente, seguida de

la delección 5q31, trisomía 8 y delección 7q31, que son diferentes a los resultados reportados en Estados Unidos (+8 y 20q-), Alemania (7q-, +8, 20q, -5/5q-) y Brasil (11q-, +8, 5q-, 7q-).<sup>18,19</sup>

Los valores hematimétricos evidenciaron datos que concuerdan con los reportados por otros autores en las líneas eritroide, granulocítica y megacariocítica (Cuadro 1).<sup>19</sup> Asimismo, los criterios de pronóstico y riesgo realizados de acuerdo con el sistema IPSS-R son similares a los reportados por Qu en China.<sup>14,20,21</sup>

## REFERENCIAS

1. Tefferi A, Vardiman JW. Myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med* 2009;361:1872-1885.
2. Garcia-Manero G, Fenaux P. Hypomethylating agents and other novel strategies in myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2011;29:516-523.
3. Rollison DE, Howlander N, Smith MT, et al. Epidemiology of myelodysplastic syndromes and chronic myeloproliferative disorders in the United States, 2001-2004, using data from the NAACCR and SEER programs. *Blood* 2008;112:45-52.
4. Aul C, Giagounidis A, Germing U. Epidemiological features of myelodysplastic syndrome: real or factitious? *Int J Hematol* 2001;73:405-410.
5. Bejar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, et al. Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med* 2011;364:2496-2506.
6. Will B, Zhou L, Vogler TO, et al. Stem and progenitor cells in myelodysplastic syndromes show aberrant stage-specific expansion and harbor genetic and epigenetic alterations. *Blood* 2012;120:2076-2086.
7. Jiang Y, Dunbar A, Gondek LP, et al. Aberrant DNA methylation is a dominant mechanism in MDS progression to AML. *Blood* 2009;113:1315-1325.
8. West RR, Stafford DA, Farrow A, Jacobs A. Occupational and environmental exposures and myelodysplasia: a case-control study. *Leuk Res* 1995;19:127-139.
9. Pedersen-Bjergaard J, Philip P, Larsen SO, Andersson M, et al. Therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. Cytogenetic characteristics of 115 consecutive cases and risk in seven cohorts of patients treated intensively for malignant diseases in the Copenhagen series. *Leukemia* 1993;7:1975-1986.
10. Valent P, Horny HP, Bennett JM, et al. Definitions and standards in the diagnosis and treatment of the myelodysplastic syndromes: consensus statements and report from a working conference. *Leuk Res* 2007;31:727-736.

11. Rund D, Ben-Yehuda D. Therapy-related leukemia and myelodysplasia: evolving concepts of pathogenesis and treatment. *Hematology* 2004;9:179-187.
12. Olney HJ, Le Beau MM. The cytogenetics of myelodysplastic syndromes. *Best Pract Res Clin Haematol* 2001;14:479-495.
13. Matsuda A, Germing U, Jinnai I, et al. Difference in clinical features between Japanese and German patients with refractory anaemia in myelodysplastic syndromes. *Blood* 2005;106:2633-2640.
14. Qu S, Xu Z, Zhang Y, et al. Impacts of cytogenetic categories in the Revised International Prognostic Scoring System on the prognosis of primary myelodysplastic syndromes: results of a single-center study. *Leuk Lymphoma* 2012;53:940-946.
15. Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997;89:2079-2088.
16. Schanz J, Tüchler H, Solé F, et al. New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (MDS) and oligoblastic acute myeloid leukemia after MDS derived from an international database merge. *J Clin Oncol* 2012;30:820-829.
17. Greenberg PL, Attar E, Bennett JM, et al. Myelodysplastic syndromes: clinical practice guidelines in oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2013;11:838-874.
18. Borgonovo T, Ribeiro E, Cornélio D, et al. Cytogenetic study of Brazilian patients with myelodysplastic syndrome (MDS). *Genetics Molecular Biol* 2005;28:654-660.
19. Matsuda A, Germing U, Jinnai I, et al. Difference in clinical features between Japanese and German patients with refractory anemia in myelodysplastic syndromes. *Blood* 2005;106:2633-2640.
20. Fenaux P, Haase D, Sanz GF, Santini V, Buske C. Myelodysplastic syndromes: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2014;25:57-69.
21. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, et al. (eds). World Health Organization classification of tumours, pathology and genetics of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC Press, 2008;75-104.