

Universidad Nacional de Córdoba
Facultad de Ciencias Químicas
Escuela de Posgrado
Carrera de Especialización en Bioquímica Clínica Área Hematología

TRABAJO FINAL DE INVESTIGACION

Fracción de Reticulocitos Inmaduro (FRI) en pacientes con linfomas como marcador temprano de la actividad eritropoyética

Bioquímica Patricia Alejandra Glavas.

Laboratorio del Servicio de Oncohematología del Hospital "Dr. Julio C. Perrando".
Rcia-Chaco.

Responsable del Hospital: Bioquímica Especialista en Hematología Dra. Analía Alejandra Fernández, 3624766736, feral_e_

Resumen

Se intentó demostrar la utilidad clínica de la Fracción de Reticulocitos Inmaduros, correlacionando el aumento de la FRI con el recuento de reticulocitos por método automatizado como parámetro comparativo, se estudió en 61 pacientes con linfomas antes, durante y después de iniciado el tratamiento. Ambos parámetros correlacionaron ($p < 0.05$ y $r \neq 0$) en pacientes con linfoma antes del tratamiento ($p 1,1E-03$ y $r 0.82$) y en pacientes en control luego de remisión metabólica y hematológica ($p 5.4E-06$ y $r 0.73$). Correlacionaron durante el tratamiento, en pacientes con Linfoma de Hodkin con tratamiento de 1ª línea en estado avanzado y generalizado en estadio IIIA-III B-IV B ($p 2.0E-08$ y $r 0.68$), en pacientes en recaída-resistencia en estadio III B-IV B ($p 2.0E-05$ y $r 0.73$), en Linfoma no Hodkin –Linfoma de Grandes Células B-Pacientes en tratamiento de la enfermedad avanzada-Pacientes en recaída o refractario-R-ESHAP/R-GMOX/ESTADIO III-IV/R-CHOP+radioterapia/Linfoma Primario o Mediastínico/Doble o triple HIT/R-DA-EPOCH ($p 1.6E-09$ y $r 0.74$), en Linfoma del manto en tratamiento en estadios avanzados III/R-CHOP Y IV/R-HIPER-CVAD ($p 3.8 E-11$ y r

0.89), en Linfoma Folicular en tratamiento en estadios avanzados asintomáticos-monoterapia RITUXIMAB (baja carga tumoral) ($p 1.0E-03$ y $r 0.97$), mientras que con terapia R-CVP no correlacionaron ($p 0.32$ y $r -0.68$). También correlacionaron en pacientes en tratamiento de tercera y ulteriores líneas de tratamiento-Grado III A/R-CHOP-Grado III B/R-CHOP/R-ESHAP ($p 2.0E-04$ y $r 0.71$), en pacientes con Linfoma en la Zona Marginal en tratamiento en estadios avanzados/R-CHOP ($p 0.02$ y $r 0.93$) y en pacientes con Linfoma T- Linfoma T/NK-MTX-L-ASPARAGINASA-SMILE/Linfoma T asociado a enteropatía-IVE-MTX/LNH T Anaplásico/Terapia de rescate ($p 1.9E-05$ y $r 0.75$). En todos los tratamientos la fracción de alta fluorescencia HFR tuvo la media de mayor valor.

Palabras claves

FRI, Fracción de Reticulocitos Inmaduros, reticulocitos, correlación, linfoma

Abstract

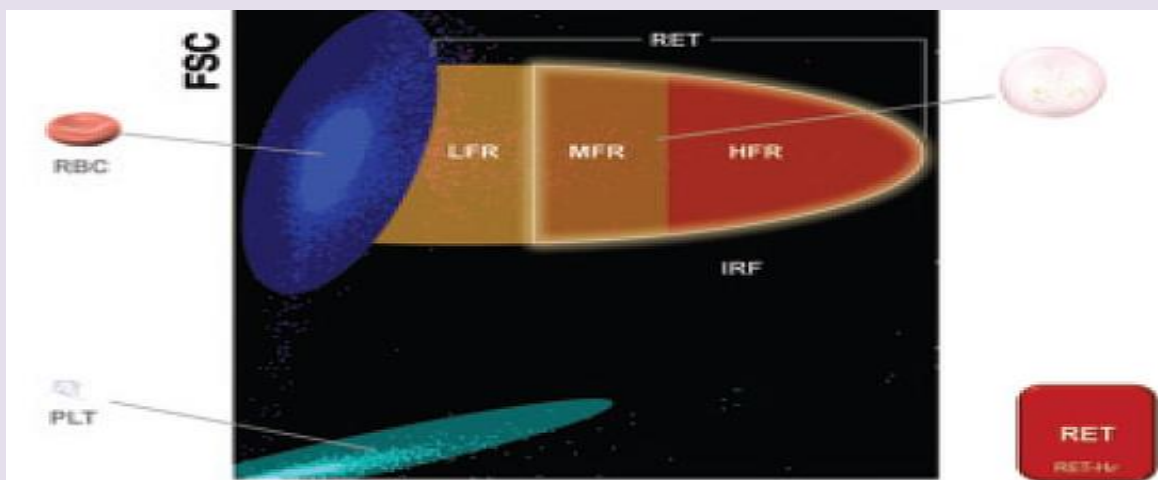
We tried to demonstrate the clinical usefulness of the Immature Reticulocyte Fraction (IRF). This fraction is released in periods of intense erythropoiesis, which is an early and sensitive index of erythropoietic activity correlating the increase of the IRF with the reticulocyte count by automated method as a comparative parameter. We studied 61 patients with lymphomas before and after starting the treatment. Correlation between these two parameters were observed ($p < 0.05$ and $r \neq 0$) in patients with lymphoma before treatment ($p 1, 1E-03$ and $r 0.82$) and in patients under control after metabolic and hematological remission ($p 5.4E-06$ and $r 0.73$). During the treatment, there was a correlation in patients with Hodgkin Lymphoma with first-line treatment in advanced stage. IIIA-III B-IVB ($p 2.0E-08$ and $r 0.68$), in patients with relapse stage resistance III B- IVB ($p 2.0E-05$ and $r 0.73$), in Non-Hodkin Lymphoma - Large B Cell Lymphoma - Patients in treatment of advanced disease. Relapsing or refractory patients R-ESHAP / R-GMOX / STADIUM III-IV / R-CHOP + radiotherapy / Primary or Mediastinal Lymphoma / Double or triple HIT / R-DA-EPOCH ($p 1.6E-09$ and $r 0.74$), in patients with Lymphoma T-Lymphoma T / NK-MTX-L-ASPARAGINASA-SMILE / T-lymphoma associated with enteropathy-IVE-MTX / LN H T Anaplastic / Rescue therapy ($p 1.9E-05$ and $r 0.75$), in mantle lymphoma under treatment in advanced stages III / R-CHOP and IV / R-HIPER-CVAD ($p 3.8 E-11$ and $r 0.89$), in Follicular lymphoma during treatment in advanced asymptomatic stages-monotherapy RITUXIMAB (low tumor burden) ($p 1.0E-03$ and $r 0.97$), whereas in patients with R-CVP therapy correlation was not observed ($p 0.32$ and $r -0.68$). We also observed correlation in patients in treatment of third and subsequent treatment lines-Grade III A / R-CHOP-Grade III B / R-CHOP / R-ESHAP ($p 2.0E-04$ and $r 0.71$) and in patients with lymphoma in the marginal zone under treatment in advanced stages R-CHOP ($p 0.02$ and $r 0.93$). In all the treatments, the high fluorescence fraction HFR had the highest value mean.

Keywords

IRF, Immature Reticulocyte Fraction, reticulocytes, correlation, lymphoma

Introducción

La FRI es considerada como marcador precoz de la actividad eritropoyética, utilidad clínica que se intenta demostrar en pacientes con linfomas. El FRI refleja la proporción de reticulocitos inmaduros y se calcula a partir de la suma de los HMR (reticulocitos de alta fluorescencia) y MHR (reticulocitos de baja fluorescencia). (1) El contador hematológico Sysmex XN 1000 clasifica y analiza grupos de reticulocitos. El proceso se inicia en la aspiración de la sangre, la cual es diluida con el diluyente RET SEARCH (II) el que perfora la membrana celular de los glóbulos rojos para que luego el colorante fluorescente (polimetino y oxacina) penetre en la célula marcando los ácidos nucleicos presentes en la misma. El contador hematológico cuenta las pequeñas diferencias de RNA a través de la citometría de flujo y dibuja un diagrama de dispersión en el eje X (se refleja la intensidad de luz fluorescente lateral) y el eje Y (la intensidad de la luz fluorescente frontal). Este calcula el índice de reticulocitos, cuenta la cantidad de reticulocitos y cuenta las pequeñas diferencias de RNA a través de la citometría de flujo. (2)



Los reticulocitos son células que se originan durante la diferenciación de los glóbulos rojos de la sangre, este junto a las demás células sanguíneas se originan a partir de una célula madre, con tres características básicas como ser la autorenovación, pluripotencialidad, y capacidad de repoblación de un huésped, a partir de ella se originan progenitores que se van comprometiendo aún más en un linaje en particular (3-4). Los eritrocitos son generados a partir de dos tipos de progenitores unipotenciales las BFU-E y CFU-E. La eritropoyetina y la IL3, inducen a lasSCF

(stemcell factor) a diferenciarse en BCF-E (unidad formadora de estallido eritroide) las cuales sobrellevan a un estallido de la actividad mitótica formando a las CFU-E (unidades formadoras de colonia eritroide) las que requieren bajos niveles de eritropoyetina para sobrevivir y formar el proeritroblasto. Esta célula es el primer precursor reconocible en la serie roja, luego le continúa el eritroblasto basófilo, eritroblastopolicromatofilo, eritroblastoortocromáticos. A medida que continúa la maduración celular la basofilia citoplasmática va disminuyendo, el contenido de hemoglobina va aumentando, el núcleo es expulsado y el citoplasma se torna acidofilo en el estadio de eritroblastoortocromático o normoblasto. Luego este da lugar al eritroblastopolicromático o reticulocito, que ya no posee núcleo, el citoplasma se presenta acidofilo con trazas grises con coloraciones especiales, se demarca el retículo de poliribosomas y RNA, y aún son capaces de sintetizar hemoglobina. (5). Los reticulocitos a medida que maduran van perdiendo RNA y proteínas, la maduración se produce parte en la médula ósea y parte en sangre periférica. (5-6-7)

En condiciones de maduración celular normal, se regulan genes comprometidos en la diferenciación y función del sistema linfóide.

La división inicial de la célula madre pluripotente lleva a dos precursores básicos, uno comprometido en el linaje megacariocito-eritroide y otro en el linfóide-granulo/monocítico. La expresión del receptor de IL-7 lleva a la diferenciación linfóide, también los Precursores multipotenciales con imprimación linfóide expresan el receptor para Fit-3 en la superficie y luego aparece la expresión de varios genes linfoides (Rag-1, IL7Ra) mucho antes de la aparición de Precursores Linfóide Común (CLP). Luego ocurre la recombinación genética para el Receptor de Célula B T y NK, pasando en el caso de las Células B por distintos estadios como célula pre-proB, preB y luego célula B inmadura. Los eventos claves de maduración están regidos por rearrreglos de los genes de inmunoglobulinas y una vez que la célula ha concluido la síntesis del receptor IgM se considera un linfocito inmaduro capaz de emigrar de la médula ósea hacia los órganos linfoides periféricos. (4). Tres tipos de células B son generadas al final de la secuencia de maduración, células B foliculares, células B de la zona Marginal y células B-1B. (4-8-9-10) Las células del repertorio T provienen también de un precursor común de médula ósea que viaja por vía sanguínea hasta el timo, donde maduran, sufren proceso de diferenciación, que darán origen a los distintos linajes: células $T\alpha\beta$, células $T\gamma\delta$, células T reg y células NKT, las que de acuerdo al linaje que pertenezcan tendrán ubicación anatómica y funciones diferentes. Luego de completar la maduración las células T migran a distintos órganos linfáticos periféricos, a los primarios como el timo, donde expresan sus receptores específicos y adquieren madurez funcional y a los órganos linfáticos periféricos o secundarios (bazo, mucosas) donde la célula T va a contactar y responder a antígenos foráneos y desarrollar inmunidad. El destino de las células T va a estar condicionado por la interacción con complejos de auto-péptidos y MHC

que muestran varios tipos de células presentadora de antígenos.(4-11). Las células NK se diferencian de un precursor hematopoyético HSC CD34+ en médula ósea, llegan a través de las vénulas del endotelio alto a tejidos linfoides secundarios, espacio parafolicular. La célula proNK activada, madura para dar origen a subpoblaciones NK. La célula NK 56 dim vuelve a circulación vía linfáticos eferentes, NK 56 bright quedan en tejidos linfoides secundarios interactuando con CD.(12). Las células dendríticas derivan de la médula ósea de una HSC y son centinelas de tejido periférico y cavidades sanguíneas, pasan por distintos estadios (precursor, inmaduro y CD madura) y migran a órganos linfáticos secundarios (13).

Cuando los genes esenciales en la función del linfocito normal se desregulan, se producen mecanismos moleculares que están involucrados en la patogénesis de leucemias y linfomas. Los linfomas son proliferaciones clonales de células linfoides maduras e inmaduras que pueden ser B y T/NK en varias etapas de diferenciación. (14) Los procesos moleculares que ocurren en el centro germinal, que generan translocaciones cromosómicas o mutaciones en linfocitos B son Hipermutación Somática (HMS), donde ocurren varias mutaciones en la región hipervariable de los genes inmunoglobulinas. Otras mutaciones implicadas en la patogénesis de los linfomas son los genes supresores de tumores (P53), amplificación genómica (REL) y translocaciones en genes No-Ig (API2-MALT). Algunos virus también están implicados en la patogénesis de linfomas como el virus del Epstein Barr (EBV) en linfoma de Burkitt endémico, linfomas pos-Tx y Linfoma de Hodgkin. La Maduración de Afinidad, donde se incrementa la afinidad del antígeno por HMS y el Cambio de Isotipo, (se reordenan VDJ-C de los genes de IgH y producción de distintos tipos de Ig) son las razones por las cuales la mayoría de los linfomas B derivan del centro germinal o post centro germinal(15). Estos procesos (HMS y Cambio de Isotipo de Ig) no ocurren en el Linfocito T, lo que explica que el linfocito B es más propenso a la transformación maligna que un linfocito T. Luego de la estimulación antigénica la respuesta T puede ocurrir en el Centro germinal o no. (4). Los Linfomas T derivados de las células de la respuesta inmune innata, tienen presentación extranodal, afectan piel y mucosas, se observan en grupos pediátricos y adultos jóvenes como LNK agresiva, Enfermedades linfoproliferativas T-EBV (+), Linfomas hepatoesplénico T y a células T $\gamma\delta$. Otros linfomas tienen localización nodal, se presentan primariamente en adultos y derivan de la respuesta inmune adaptativa. Las Neoplasias Linfoides se diagnostican y clasifican en función a síntomas y signos clínicos, hallazgos de laboratorio, morfología, histopatología, Inmunofenotipo, citogenética y biología molecular. Las Neoplasias Linfoides se dividen en dos grandes grupos: de células precursoras B y T, neoplasias de células maduras B y T y Linfoma Hodgkin. (4-15). Pacientes con linfomas son sometidos a tratamientos utilizando diversos fármacos o quimioterápicos, cuya función está destinada a interferir en alguna etapa del ciclo celular, ya sea en la fase G1, donde se produce la síntesis de enzimas necesarias para la síntesis del ADN, ARN y proteínas, en la fase S donde se sintetiza el ADN, en la fase

G2 donde la célula entra en un periodo premitótico sintetizándose ARN y proteína, luego da lugar a la mitosis en la fase M y por último una fase de reposo o fase G0 inactivas. Por lo tanto, la quimioterapia puede actuar interrumpiendo cualquiera de estas fases provocando alteración en la síntesis de ácidos nucleicos, proteínas o la división celular. De esta manera se encargan de detectar, combatir y controlar la enfermedad. Debido a la inespecificidad, los diferentes citostáticos afectan a otras células y tejidos normales del organismo que se encuentran en división activa. Existe una amplia variedad de tratamientos de terapia, adyuvante, neo adyuvante, de inducción, de consolidación, de mantenimiento, de primera línea y de segunda línea paliativa. Por lo tanto, existen diferentes protocolos para los distintos linfomas y considerando que la mayoría de los quimioterápicos presentan efectos adversos como mielosupresión, la respuesta medular varía significativamente en cada uno de los casos con el transcurso de los días. (16). Antes de someter al paciente a un tratamiento determinado se deberá considerar en todos los casos algunos factores vinculados a la valoración de la enfermedad, exploración física completa, valoración ECOG (escala en forma práctica para medir la calidad de vida del paciente), revisión de la historia clínica y analítica. Dentro de los análisis que incluyen hemograma, bioquímica general, función renal y hepática que incluya la LDH, prueba basal de coagulación, dosaje de $\beta 2$ microglobulina, proteinograma y serología (VHB, VHC, VIH). Se debe realizar biopsia y aspirado de médula ósea con citometría de flujo, diagnóstico histológico del ganglio completo o de una cuña del mismo, PET-TC (combinación de tomografía por emisión de positrones y escáner de tomografía computarizada), tomografía computarizada toracoabdominopélvica y en casos seleccionados cervical computarizada), ecocardiograma o ventriculografía isotópica. Además, se debe realizar la estadificación según escalas, teniendo en cuenta que en pacientes ancianos se recomienda la aplicación de escalas geriátricas y comorbilidad, índices pronósticos, test de embarazo en mujeres en edad fértil y preservación de fertilidad. Teniendo en cuenta la clasificación de Neoplasias Linfoides, este trabajo fue realizado en función a algunas Neoplasias de Células maduras B, T-NK y Linfoma de Hodgkin. (15-17)

Se estudió la correlación entre la FRI y el recuento de reticulocitos en pacientes antes del tratamiento, en remisión hematológica – metabólica y en pacientes durante el tratamiento

Objetivo general

Evaluar la FRI en pacientes con linfomas como marcador temprano de la actividad eritropoyética.

Objetivo específico

Determinar si existe correlación entre el FRI y recuento de reticulocitos por método automatizado, en pacientes con linfomas antes y durante el tratamiento y en aquellos pacientes que hayan alcanzado la remisión hematológica y metabólica. Establecer si existen diferencias significativas antes y después del tratamiento con quimioterapia

Materiales y métodos:

Se realizó un estudio transversal y retrospectivo a un total de 61 pacientes de ambos sexos, mayores de 14 años que concurren al Laboratorio del servicio de Oncohematología del "Hospital Julio C. Perrando" desde agosto del 2017 a agosto del 2018 con diagnóstico de distintos tipos de linfoma, quienes fueron analizados mediante resultados de FRI V.R.(9.3-17.4)% con sus distintas fracciones baja, moderada y alta fluorescencia (HRI, MRI y LRI)% y recuento de reticulocitos RET V.R.(0.86-1.36)% emitidos por el contador hematológico Sysmex XN 1000. Todas las muestras fueron sangre entera, extraídas por venipuntura, anticoagulada, recogidas en tubos con EDTA di potásico, procesadas antes de las 3 horas. Se tuvo en cuenta en qué etapa del tratamiento estaba el paciente, se excluyeron pacientes que tuvieron infecciones, requirieron transfusiones, presentaban aglutininas frías, malaria, muestras con presencia de cuerpos de HowellJolly, presencia de plaquetas gigantes o agregados de plaquetas y leucocitos fragmentado. Se estudió la correlación entre la FRI y el recuento de reticulocito en todos los casos. El estudio se dividió en: - pacientes antes de iniciado el tratamiento y pacientes en remisión metabólica y hematológica; - pacientes con Linfoma de Hodgkin y pacientes con Linfomas no Hodgkin dentro de los que se incluyeron pacientes con Linfoma de Grandes Células B, Linfoma del Manto, Linfoma Folicular, Linfoma de la Zona Marginal y Linfoma T/NK.

A su vez cada linfoma se clasifica y aplica el tratamiento indicado de acuerdo al diagnóstico histopatológico, morfología (hematoxilina y eosina), inmunohistoquímica, pruebas diagnóstica, de estadificación y factores pronóstico.

*En **Linfoma de Hodgkin** el tratamiento quimioterápico de elección es ABVD (DOXORRUBICINA, BLEOMICINA, VINBLASTINA, DACARBAZINA) el **tratamiento de primera línea** se dividió en: (4-15-17)*

***Estadio localizado con pronóstico favorable o desfavorable y riesgo desfavorable** y con posibilidad de PET post 6to ciclo;*

***Estadios avanzados** los protocolos utilizados son ABVD (6 ciclos es el más utilizado), BEACOPP (BLEOMICINA, ETOPOSIDO, DOXORRUBICINA, CICLOFOSFAMIDA, VINCRISTINA, PROCARBAZINA, PREDNISONA, FILGRASTIM,) y Stanford V (DOXORRUBICINA, VINIBLASTINA, MECLORETAMINA, VINCRISTINA, BLEOMICINA, ETOPOSIDO, PREDNISONA).*

*El **tratamiento del LH clásico en recaída o refractario:** tratamiento de rescate: esquemas con platino y etoposido o esquemas con Gemcitabine.*

En Linfoma de Hodgkin a predominio linfocítico nodular (LHPLN) (4-15-17)

Estadio localizado IA y IIA sin factores pronósticos adversos: ABVD + Rituximab; CHOP +/- Rituximab; RT en campos comprometidos 30 Gy

Estados IB y IIB y estadios avanzados III y IV: ABVD 6 a 8 ciclos +/- Rituximab + RT 30Gy; CHOP +/- Rituximab + RT 30 Gy

En Linfomas no Hodgkin:

Linfomas de grandes células B la terapéutica es el CHOP (CICLOFOSFAMIDA, DOXORRUBICINA, VINCRISTINA, PREDNISONA, 8ciclos cada 21 días) la adición del Rituximab potencia la actividad de la quimioterapia R-CHOP, puede dividirse en (4-15-17)

Tratamiento de enfermedad localizada. Estadios I y IIA sin enfermedad voluminosa (<10 cm). 3 ciclos de R-CHOP y radioterapia.

Tratamiento de la enfermedad avanzada. Estadios III-IV 6-8 cursos de CHOP

Pacientes en recaída o refractarios, candidatos a terapia intensiva o no, mayores a 80 años, con deterioro de la función cardiaca, pacientes con linfoma primario mediastínico o con linfoma doble o triple hit, llevan distintos esquemas terapéuticos: R-CHOP, R-mini-CHOP, R-CEOP, R-COMP, R-ESHAP, DA-EPOCH.

Linfoma del manto: el tratamiento depende del curso clínico del mismo, ya que podría adoptarse una actitud de esperar y ver. En caso de tratamiento (4-15-17)

Tratamiento de los estadios iniciales I y II. R-CHOP y radioterapia.

Tratamiento de los estadios avanzados III y IV. Hyper CVAD/M-A. Hyper CVAD modificado.

Linfoma folicular: no existe tratamiento que se considere curativo para estos linfomas estos pueden tener: (4-15-17)

Estadios localizados, para ellos el tratamiento es radioterapia local, cursos cortos de quimioterapia, RITUXIMAB, CLORAMBUCILO, CVP con o sin RITUXIMAB, asociada a radioterapia local.

Estadios avanzados. Tratamiento de primera línea de los estadios avanzados

sintomáticos: RITUXIMAB (pacientes con baja carga tumoral y en pacientes añosos con comorbilidades o mal estado funcional), R-CVP (RITUXIMAB, CICLOFOSFAMIDA, VINCRISTINA, PREDNISOLONA) pacientes con linfoma folicular avanzado, R-CHOP, R-CHVP-IFN. **Tratamiento de segunda línea** RITUXIMAB, VENDAMUSTINA, R-CHOP 21, R-CVP, RITUXIMAB, ETOPOSIDO, PREDNISOLONA, ARA-C, Cis-Platino. **Tercera y ulteriores líneas de tratamiento** R-CHOP, R-CVP, RV, RITUXIMAB, BENDAMUSTINA, R-ESHAP, OBITUZUMAB.

Linfoma de la zona marginal: dependiendo el estadio, el tipo histológico, localización y evolución el tratamiento puede ser: (4-15-17))

Estadio localizado I y II: radioterapia, cirugía, tratamiento con Doxicilina.

Estadios avanzados III y IV: antraciclinas, RITUXIMAB.

Linfoma T

Tratamiento de primera línea: CHOP Y CHOEP. (4-15-17)

Subtipos específicos: Linfoma T7NK: MTX y L-Asparaginasa. Esquema SMILE. Linfoma T asociado a enteropatía: IVE/MTX seguido de trasplante autólogo. LNHT anaplasico con ALK positivo son de mejor pronóstico, los de IPI elevado de peor pronóstico, plantear trasplante autólogo de consolidación. EL esquema de tratamiento se sintetiza a: CHOP, CHOEP, SMILE. IVE/MTX. GENCITABINA+OXALIPLATINO

Resultados

El interés del estudio está centrado en determinar la fuerza de las relaciones entre el FRI% y RET%, para ello se interpretará como hipótesis nula si:

H0 R = 0 con P > 0.05

-No hay correlación (asociación entre las variables)

Hipótesis alternativa si:

H1 R ≠ 0

-Hay correlación (asociación entre las variables)

Para evaluar las diferencias significativas en las medias de los distintos componentes de FRI (HFR-MFR-LFR) % para un nivel de significación de 0.05, el test utilizado será ANOVA EN BLOQUE: Y=U+T+B+E

❖ **PACIENTES ANTES DEL TRATAMIENTO**

Correlación de Pearson: Coeficientes\probabilidades

	RET %	FRI%
RET %	1,00	1,1E-03
FRI%	0,82	1,00

Los resultados permiten constatar que le aumento de la FRI correlacionó con un aumento simultaneo del recuento de reticulocitos. (Fig. 1)

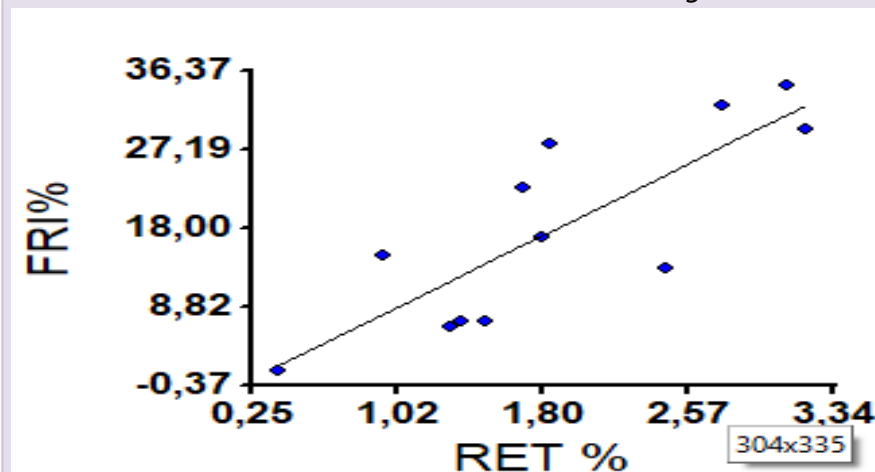


Fig. 1- Correlación entre FRI % y Reticulocitos %, en pacientes antes de iniciar el tratamiento.

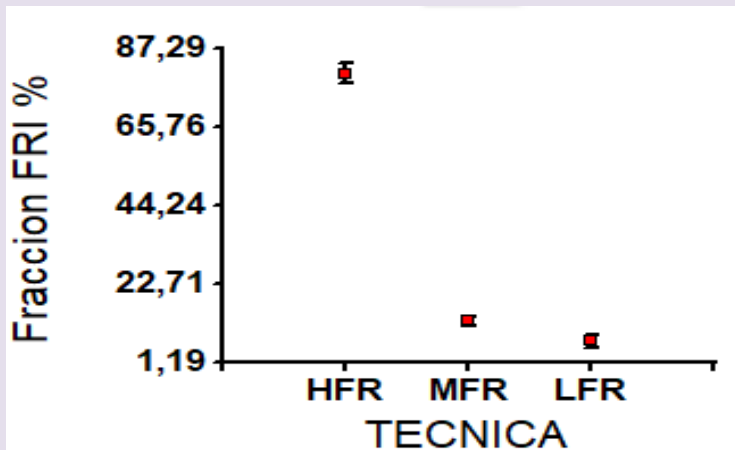


Fig. 2- Evaluación de las diferencias significativas de las distintas medias de las distintas fracciones

No existe diferencia significativa entre LFR y MFR entre sus medias, siendo la HFR la que refleja el porcentaje de fluorescencia más alto, de la fracción de reticulocitos inmaduros. (Fig. 2)

❖ **PACIENTES EN REMISION METABOLICA Y HEMATOLOGICA**

Correlación de Pearson: Coeficientes\probabilidades

	RET %	FRI %
RET %	1,00	5,4E-06
FRI %	0,73	1,00

Los resultados permiten constatar que le aumento de la FRI correlacionó con un aumento simultaneo del recuento de reticulocitos. (Fig. 3)

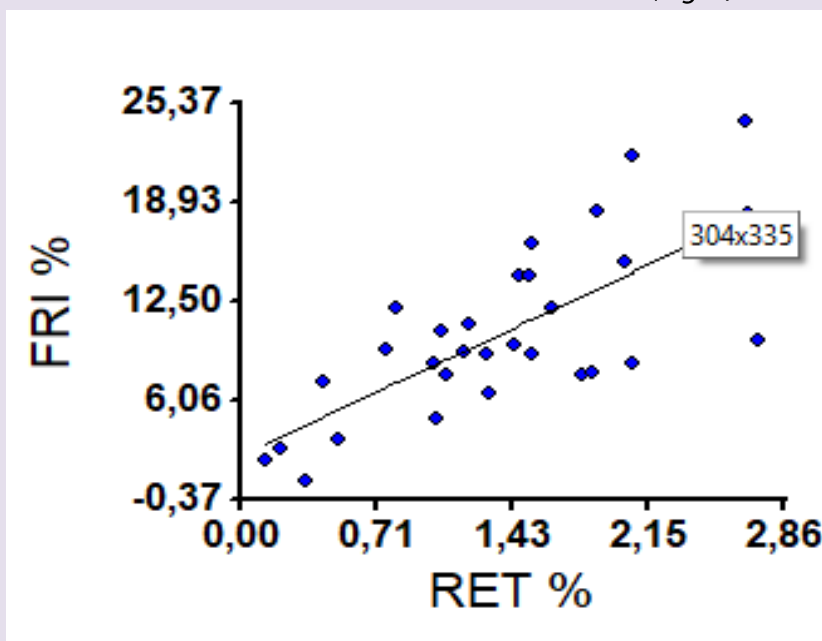


Fig. 3- Correlación entre FRI % y Reticulocitos %, en pacientes en remisión metabólica y hematológica.

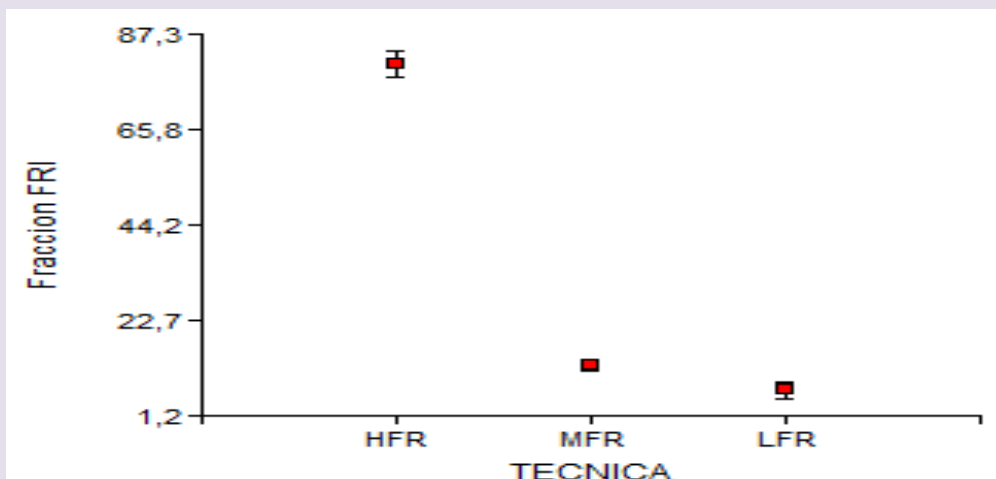


Fig. 4- Evaluación de las diferencias significativas de las distintas medias de las distintas fracciones.

No existe diferencia significativa entre LFR y MFR entre sus medias, siendo la HFR la que refleja el porcentaje de fluorescencia más alto, de la fracción de reticulocitos inmaduros. (Fig. 4).

❖ **LINFOMA DE HODKIN**

- TRATAMIENTO DE 1° LINEA-Estadio avanzado o generalizado-DURANTE EL TRATAMIENTO ESTADIO III A-III B –IV B / ABVD.
- TRATAMIENTO EN RECAIDA/ RESISTENCIA-ESTADIO IIIB-IV B/ ABVD + BRENTUXIMAB y NIVOLUMAB/ ESHAP/GEMCITABINE-PREDNISONA.

❖ **LINFOMA NO HODKIN**

- LINFOMA DE GRANDES CELULAS B-ESTADIO III-IV/R-CHOP + radioterapia / LINFOMA PRIMARIO MEDIASTINICO/DOBLE O TRIPLE HIT/R-DA-EPOCH.
- LINFOMA DEL MANTO-TRATAMIENTOS EN ESTADIOS AVANZADOS III /R-CHOP Y IV/R-HIPER-CVAD
- LINFOMA FOLICULAR-TRATAMIENTO-ESTADIOS AVANZADOS-TRATAMIENTO DE PRIMERA LINEA DE LOS ESTADIOS AVANZADOS SINTOMATICOS-MONOTERAPIA RITUXIMAB (BAJA CARGA TUMORAL)-

En todos los linfomas en los distintos tratamientos se obtuvo correlación entre la FRI% y RET%, y la fracción de alta fluorescencia es la que refleja la media más alta.

- **LINFOMA FOLICULAR AVANZADO-TRATAMIENTO DE PRIMERA LINEA R-CVP**

Correlación de Pearson: Coeficientes\probabilidades

	RET %	FRI %
RET %	1,00	0,32
FRI %	-0,68	1,00

Los resultados permiten constatar que le aumento de la FRI no correlacionó con un aumento simultaneo del recuento de reticulocitos. (Fig. 5)

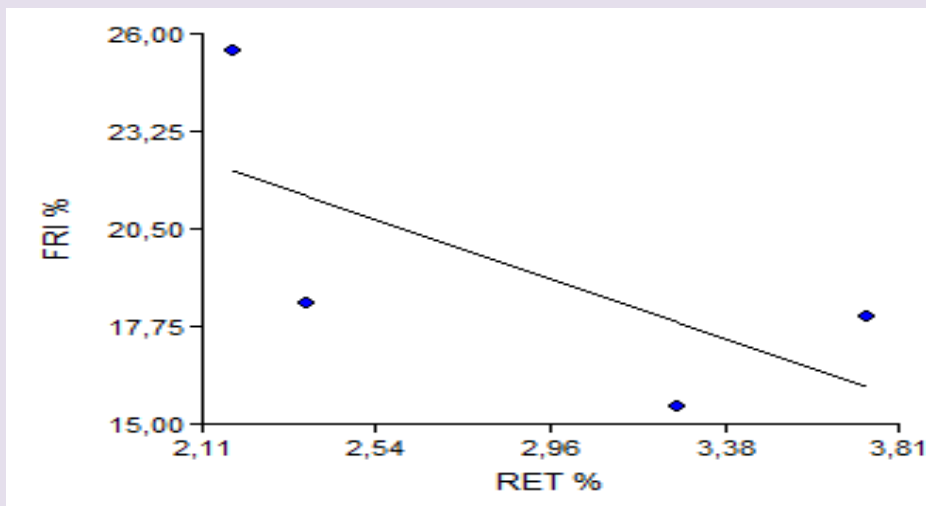


Fig. 5- Correlación entre FRI % y Reticulocitos %, en pacientes en linfoma folicular avanzado.

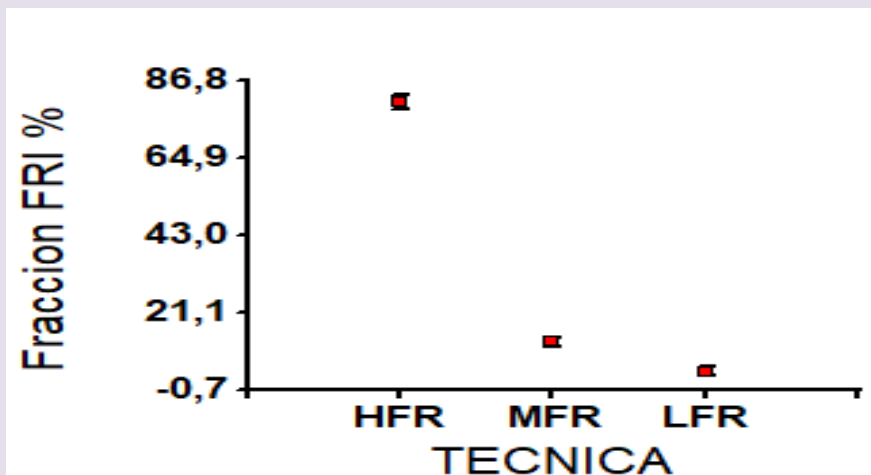


Fig. 6- Evaluación de las diferencias significativas de las distintas medias de las distintas fracciones.

De acuerdo a las medidas de resumen se observan diferencia significativa en las medias de las distintas fracciones, siendo la HFR la de valor más alto (Fig. 6)

- TERCERA Y ULTERIORES LINEAS DE TRATAMIENTOS-GRADO III A/ R-CHOP-GRADO III B/R-CHOP-R-ESHAP

- LINFOMA DE LA ZONA MARGINAL-TRATAMIENTO ESTADIO AVANZADO/ R-CHOP
- ❖ **LINFOMA T**
- TRATAMIENTO DE PRIMERA LINEA-LINFOMAS T/NK- MTX-L-ASPARAGINASA-SMILE/LINFOMA T ASOCIADO A ENTEROPATIA-IVE-MTX/LNH T ANAPLASICO/TERAPIA DE RESCATE.

En ambos linfomas en los distintos tratamientos se obtuvo correlación entre la FRI% y RET%, y la fracción de alta fluorescencia es la que refleja la media más alta.

Discusión

Como la FRI (suma de la relación de fluorescencia alta y la relación de fluorescencia media) es considerada como un “marcador precoz de la actividad eritropoyética” porque se produce antes del incremento absoluto del número de reticulocitos (1), se intentó demostrar la utilidad clínica estudiando la correlación de la FRI con el recuento de reticulocitos por método automatizado. Se tomó como criterio de decisión: Hipótesis nula $H_0 R = 0$ con $P > 0.05$ -No hay correlación, es decir no hay asociación entre las variables y para la Hipótesis alternativa si: $H_1 R \neq 0$ -Hay correlación es decir hay asociación entre las variables. Se aplicó esto a cada uno de los 61 pacientes con algún tipo de linfoma considerando su estadio de la enfermedad obteniéndose en pacientes con linfoma antes del tratamiento ($p 1,1E-03$ y $r 0.82$), en pacientes en control luego de remisión metabólica y hematológica ($p 5.4E-06$ y $r 0.73$). Durante el tratamiento, en pacientes con Linfoma de Hodgkin con tratamiento de 1ª línea en estado avanzado y generalizado en estadio IIIA-IIIB-IVB ($p 2.0E-08$ y $r 0.68$), en pacientes en recaída-resistencia en estadio IIIB-IVB ($p 2.0E-05$ y $r 0.73$). En Linfoma no Hodgkin -Linfoma de Grandes Células B-Pacientes en tratamiento de la enfermedad avanzada-Pacientes en recaída o refractario, en estadio III-IV, /Linfoma Primario o Mediastínico ($p 1.6E-09$ y $r 0.74$), en Linfoma del manto en tratamiento en estadios avanzados III y IV ($p 3.8 E-11$ y $r 0.89$), en Linfoma Folicular en tratamiento en estadios avanzados asintomáticos (con baja carga tumoral) ($p 1.0E-03$ y $r 0.97$), pacientes en tratamiento de tercera y ulteriores líneas de tratamiento-Grado III A, grado III B ($p 2.0E -0.4$ y $r 0.71$), en pacientes con Linfoma en la Zona Marginal en tratamiento en estadios avanzados ($p 0.02$ y $r 0.93$), en pacientes con Linfoma T- Linfoma T/NK, Linfoma T asociado a enteropatía, T Anaplasico con Terapia de rescate ($p 1.9E-0.5$ y $r 0.75$). Con terapia en tratamiento de primera línea del linfoma folicular avanzado no correlacionaron ($p 0.32$ y $r -0.68$). En todos los tratamientos la fracción de alta fluorescencia HFR tuvo la media de mayor valor.

Conclusiones

En la mayoría de los pacientes estudiados con distintos tipos de linfomas que acudieron a control o que estaban en remisión metabólica y hematológica o en los distintos estadios de la enfermedad quedó demostrado que cada aumento de la FRI correlacionó perfectamente con el aumento de reticulocitos por método automatizado.

No hubo correlación entre Linfoma folicular avanzado con tratamiento de primera línea. Se observó que por cada aumento de la FRI no se asociaba a un aumento de recuento de reticulocitos, tal vez la terapia utilizada generó un efecto tóxico, o el tamaño de la muestra fue insuficiente ya que solo es un paciente el que se evaluó debido a que este tipo de linfomas cursan con mala evolución y pronóstico.

En todos los casos evaluados, de acuerdo a las medidas de resumen, se observaron diferencias significativas en las medias de las distintas fracciones, concluyendo que la fracción HFR es la de valor más alto.

Se puede concluir que la correlación tal vez no sea el método adecuado para observar que la FRI aumenta mucho antes que el recuento de reticulocitos, pero sí que la fracción de alta fluorescencia es la primera que aumenta entre las demás fracciones.

Agradecimientos

Mi reconocimiento a la Bioquímica Especialista Analía Alejandra Fernández ya que, sin su constante colaboración, este trabajo no hubiera sido posible. Y gratitud a todo el personal del Laboratorio del Servicio de Oncohematología del Hospital "Julio C. Perrando" por las facilidades dadas para la realización de la presente investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1-Sala, M. C. Et. al. Nuevos marcadores bioquímicos para el estudio de pacientes con anemia. HEMATOLOGIA XXIII Congreso Argentino de Hematología. 2017;21:126-136.

2-XN 1000- Analizador hematológico automático Serie XN. Instrucciones de uso. Kobe, Japón. Sysmex Corporation. Copyright ©2010-2011 by Sysmex Corporation. Cap. 15:25-26.

3-Dan, L. L. HARRISON'S Hematology and Oncology. New York: Editions McGraw. 2010;17 th. Ed. 768: 2-7

4-Tartas, N. Et. Al. Manual de oncohematología. Las neoplasias linfoides. 2009 Buenos Aires, Argentina. 2009;251: 1-247.

5-Alonso, M. Índices Reticulocitarios: Fracción inmadura de reticulocitos (FIR), Contenido de Hemoglobina de Reticulocitos (CHR). *Hematología*. 2013; 17 (1): 67-69.

6-Rodak B. Et. Al. *Atlas de Hematología Clínica*. Editorial Panamericana 2013. 4° Ed. 254p.: 19-31.

7-Hernández. R. A Et. Al. *El conteo automático de reticulocitos: una herramienta de uso diagnóstico, clínico e investigativo*.

Revista Cubana Hematología Inmunología Hemoterapia 2015; 31 (4): 362-371.

8-Yokota T. Et. Al. *Complementary regulation of early B-lymphoid differentiation by genetic and epigenetic mechanisms*. *Int J Hematol* 2013; 98 (4): 382-9.

9-Nagasawa, T. Nichos microambientales en la médula ósea necesarios para el desarrollo de las células B. *Natura Revista de Inmunología*. 2006; 6: 107-116.

10-Michiko I. Et. Al. *Early B lymphocyte development: Similarities and differences in human and mouse*. Baishideng Publishing Group Inc. 2014; 6(4): 421-431.

11-Ludger, K. Et. Al. *Selección positiva y negativa del repertorio de células T: lo que los timocitos ven y no ven*. *Natura Revista de Inmunología*. 2014; 14: 377-391.

12-Caligiuri, M. A. *Células asesinas naturales humanas*. *Revista Blood* 2008; 112(3): 461-469.

13-Elodie S. Et. Al. *Characterization of resident and migratory dendritic cells in human lymph nodes*. *The Journal of Experimental Medicine*. 2012; 209(4) 653-660.

14-Swerdlow, S. H. Et. Al. *WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon, Francia. Publicado por la Agencia Internacional para la investigación del cáncer (IARC). 4th. ed. Lyon 2008.

15-Guía de diagnóstico y tratamiento. *Sociedad Argentina de hematología*. Edición 2017.

16- Guillen Ponce, C. Et. Al. *Guía actualizada de tratamientos. Que es, como funciona y tipos de quimioterapia*. 2017. *Sociedad Española de Oncología Médica*.

17-Guía de linfomas 2017. ISBN: 978-84-940139-6-6 DL: M-22628-2017 - Editorial Doing Soluciones Gráficas S.A.