

Artículo original

Actividad de las proteínas anticoagulantes C, S y antitrombina al diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda

José Carlos Jaime Pérez,* Eduardo Vázquez Garza,* David Gómez Almaguer*

RESUMEN

Antecedentes: los niños con leucemia linfoblástica aguda tienen un riesgo elevado de complicaciones trombóticas asociadas a la disminución de actividad de las proteínas C, S y antitrombina que se ha relacionado con el tratamiento, particularmente con la administración de L-asparaginasa y la colocación de una catéter venoso central.

Objetivo: investigar si la actividad de estas proteínas disminuye al diagnóstico, antes de aplicar quimioterapia y de colocar una línea central.

Métodos: se midió la actividad de las proteínas C, S y AT al momento del diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda; en 83 niños se dio seguimiento clínico documentando episodios tromboembólicos durante la fase de tratamiento de inducción a la remisión con un régimen de mediana intensidad en la administración de L-asparaginasa.

Resultados: la actividad de las proteínas anticoagulantes al diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda estuvo dentro del rango normal, aunque existió una heterogeneidad considerable, probablemente debida a una tasa de síntesis hepática alterada. Esta variación en la actividad no se relacionó con el desarrollo de trombosis.

Conclusión: no se encontró disminución significativa en la actividad funcional de las proteínas C, S y AT ni episodios trombóticos en los pacientes con un nuevo diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda.

Palabras clave: leucemia linfoblástica aguda, anticoagulantes naturales, proteína C, proteína S, antitrombina.

ABSTRACT

Background: Children with acute lymphoblastic leukemia have an increased risk of suffering thrombotic complications associated to a decreased activity of natural anticoagulant proteins C, S and antithrombin that have been related to treatment, particularly to chemotherapy and central catheter placement.

Objective: To investigate if the activity of these proteins decreases upon diagnosis, before starting chemotherapy and placing a central line.

Methods: Functional activity of proteins C, S, and AT was measured in 83 children upon diagnosis of ALL. Patients were clinically followed-up documenting thrombotic events from induction of treatment to remission, with a regimen which included moderate doses of L-asparaginase.

Results: The activity of the anticoagulant proteins upon diagnosis of ALL was within normal range. Although, there was a considerable heterogeneity, it was probably due to the altered rate of liver synthesis. This variation in the activity was not related to the development of thrombosis.

Conclusion: No significant decrease in the functional activity of proteins C, S, and AT, nor were thrombotic episodes found in patients with a new diagnosis of ALL.

Key words: Acute lymphoblastic leukemia, natural anticoagulants, protein C, protein S, antithrombin.

* Servicio de Hematología.
Facultad de Medicina y Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de la UANL

Correspondencia: Dr. José Carlos Jaime Pérez. Servicio de Hematología, Edificio Dr. Rodrigo Barragán Villarreal, 2º piso. Facultad de Medicina y Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de la UANL. Avenida Madero y Gonzalitos s/n, colonia Mitrás Centro, CP 64460, Monterrey, Nuevo León, México. Tel. y /fax: 01(81) 1257-2905 y 06. E-mail: carjaime@hotmail.com

Recibido: abril, 2007. Aceptado: junio, 2007.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

El tratamiento de inducción a la remisión de niños recién diagnosticados con leucemia linfoblástica aguda incluye distintos agentes quimioterápicos con mecanismos de acción diversos, los cuales actúan en diferentes fases del ciclo celular y en distintas etapas de síntesis, críticas para la proliferación de los linfoblastos malignos.¹⁻³ Estos medicamentos pueden causar alteraciones significativas en la secuencia de la hematopoyesis; la más relevante es la trombocitopenia, cuyo tiempo de recuperación a una cuenta plaquetaria de $100 \times 10^9/\text{L}$ es

un factor pronóstico para la supervivencia y el tiempo libre de enfermedad.² Además, durante la inducción de la remisión ocurren complicaciones trombóticas con una frecuencia de 1.5 a 36%,³⁻⁸ lo cual se atribuye a la disminución de la actividad plasmática de las proteínas anticoagulantes naturales C, S y AT,⁴⁻⁷ relacionada principalmente con la quimioterapia basada en dosis altas de la enzima L-asparaginasa, corticoesteroides (principalmente prednisona) y la colocación de un catéter venoso central.⁸⁻¹¹ Para prevenir episodios tromboembólicos, se han hecho estudios de intervención profiláctica con infusión de antitrombina.¹² Las causas y los mecanismos del desarrollo de estos trastornos no se conocen plenamente.¹³

En la elaboración de este trabajo, se evaluó el grado de actividad de las proteínas anticoagulantes C, S y AT y su posible relación con episodios trombóticos clínicamente significativos en niños con un nuevo diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda. Se hizo un seguimiento clínico minucioso para la detección temprana de episodios trombóticos durante la fase de inducción de la remisión de la terapia antileucémica, que incluyó dosis moderadas de la enzima L-asparaginasa, misma que ha sido señalada como la principal responsable del desarrollo de trombosis en estos pacientes.

PACIENTES Y MÉTODOS

Este estudio siguió los principios de la Declaración de Helsinki, y fue aprobado por el Comité Institucional de Ética. En todos los casos se obtuvo el consentimiento informado de los padres de los pacientes.

Se estudió la actividad anticoagulante en 83 niños, de 15 años de edad o menores, con un diagnóstico nuevo de leucemia linfoblástica aguda, tratados con una modificación del protocolo MRC UKALL XI;¹⁴ la dosis de L-asparaginasa administrada en nuestro protocolo fue moderada: 6,000 U/m², vía intramuscular, en diez aplicaciones.

La actividad funcional de las tres proteínas anticoagulantes fue analizada antes de la primera aplicación de L-asparaginasa. Los resultados se compararon con los valores normales reportados en la bibliografía¹⁵ y se dio seguimiento clínico para documentar los episodios trombóticos.

La actividad de la antitrombina III (StachromatAT III®, Stago, France) y la proteína C (Stachrom Protein C®, Stago, France) se determinaron con un ensayo colorítmétrico modificado.¹⁶ La actividad de la proteína S (Liatest Protein S®, Stago Diagnostics, France) se determinó usando un inmunoensayo mediado por partículas de látex.¹⁷ Los valores de referencia de las proteínas anticoagulantes fueron: para la proteína S, 70-140%; para proteína C, 70-130%, y para AT, 80-120%.¹⁵

El inmunofenotipo de los linfoblastos¹⁸ se determinó por medio de un citómetro de flujo FACSCalibur® (Becton Dickinson, EU); se incluyeron los siguientes anticuerpos marcados con fluoresceína: anti-CD10,-CD19,-CD20,-CD22.

Análisis estadístico

Se realizó con el programa SPSS 12.0® (SPSS Inc., EU). Incluyó valores promedio, rango y desviación estándar. La prueba de la t de Student se usó para probar las diferencias entre los valores promedio; los valores de p menores a 0.05 se consideraron significativos.

RESULTADOS

Se incluyeron en el estudio, de manera consecutiva, ochenta y tres niños menores de 15 años, 42 del sexo masculino y 41 del femenino, con un nuevo diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda establecido por análisis citomorfológico y citometría de flujo. El cuadro 1 muestra los datos importantes del estudio hematológico hecho al momento del diagnóstico; se

Cuadro 1. Parámetros relevantes en 83 pacientes con leucemia linfoblástica aguda

Parámetro	Resultado ± DE
Edad, Años	8±4.8 (0-19)
Hemoglobina (g/L)	6.9 ± 2.5 (2-12)
Leucocitos ($\times 10^9/L$)	30.3 ± 74.8 (0.5-600)
Plaquetas ($\times 10^9/L$)	93.3 ± 122.3 (7-817)
Albúmina (g/L)	35.8 ± 5.2 (21-44)
IgG (mg/dL)	1031 ± 628 (400-5,850)
B (%)	65 (78.3) -
T (%)	5 (6) -
B CALLA negativo (%)	1 (1.2) -
B Filadelfia + (%)	1 (1.2) -
Bifenotípica (%)	1 (1.2) -
Perdido (%)	10 (12) -

incluyen parámetros adicionales relevantes como albúmina, concentración de IgG y los resultados del análisis de citometría de flujo.

La media y la desviación estándar de los valores plasmáticos de actividad de las proteínas anticoagulantes en el grupo de 83 niños fueron las siguientes: para proteína C, $89 \pm 29\%$; para proteína S, $98 \pm 30\%$, y para AT, $103 \pm 21\%$.

Una paciente de cuatro años de edad desarrolló un episodio trombótico en el sistema nervioso central después de recibir la L-asparaginasa. Tuvo secuelas de hemiparesia que se resolvieron con terapia de rehabilitación. Además, un paciente masculino desarrolló una trombosis venosa superficial, que se resolvió con tratamiento conservador y sin complicaciones. Aunque en ambos casos hubo disminución de las proteínas anticoagulantes, no fue estadísticamente significativa en relación con los 81 pacientes restantes, quienes no tuvieron complicaciones trombóticas.

DISCUSIÓN

La actividad de los anticoagulantes naturales se determinó al momento del diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda, al inicio del tratamiento de inducción a la remisión, en un grupo de 83 pacientes pediátricos. La actividad de esas proteínas estuvo dentro del rango normal en todos los pacientes.

Aunque la actividad de las proteínas C, S y AT fue normal, hubo variaciones notables al diagnosticar la leucemia linfoblástica aguda y al comenzar el tratamiento de inducción a la remisión, probablemente como un reflejo de la enfermedad o por el inicio de la administración de agentes quimioterapéuticos. La actividad de los anticoagulantes C y S fue ligeramente mayor en aquellos niños con sobrepeso u obesidad, aunque este suceso no se relacionó con el desarrollo de ninguna coagulopatía específica en ese grupo.

Los resultados demuestran que con el protocolo de quimioterapia utilizado,¹⁴ con una dosis moderada de L-asparaginasa de $6,000 \text{ UI/m}^2$, no se desarrollan complicaciones trombóticas, como sucede con dosis altas de esta enzima (de hasta $25,000 \text{ U/m}^2$).¹⁹ Tales trastornos se asocian a la exacerbación de un estado protrombótico de origen multifactorial.^{20,21}

A lo anterior podría también contribuir la conducta conservadora y mínimamente invasora que se practica en nuestra institución, donde se difiere la colocación de un catéter central hasta que el paciente se encuentre en condiciones óptimas para este procedimiento, pues la presencia de un catéter aumenta significativamente el riesgo de desarrollar una trombosis.¹² Por último, es importante hacer notar que la tasa de episodios trombóticos observada en el grupo de niños con un nuevo diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda se encuentra en el rango más bajo de los reportados en la bibliografía,^{4-7,12} lo que puede deberse a la combinación de un protocolo de tratamiento con dosis entre bajas y moderadas de L-asparaginasa y postergación de la instalación de un catéter venoso central.

REFERENCIAS

- Chabner BA, Wilson W, Supko J. Pharmacology and toxicity of antineoplastic drugs. In: Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal JT, editors. Williams Hematology. 7th ed. New York: McGrawHill, 2006;pp: 249-74.
- Faderl S, Thall PF, Kantarjian HM, Estrov Z. Time to platelet recovery predicts outcome of patients with de novo acute lymphoblastic leukaemia who have achieved a complete remission. Br J Haematol 2002;117:869-74.
- Nowak-Gottl U, Wermes C, Junker R, Koch HG, et al. Prospective evaluation of the thrombotic risk in children with acute lymphoblastic leukemia carrying the MTHFR TT 667 genotype, the prothrombin G20210A variant, and further prothrombotic risk factors. Blood 1999;93:1595-9.
- Mitchell LG, Sutor AH, Andrew M. Hemostasis in childhood acute lymphoblastic leukemia: coagulopathy induced by disease or treatment. Semin Thromb Hemost 1995;21:390-401.
- Ruud E, Holmstrom H, De Lange C, Natvig S, et al. Thrombotic effects of asparaginase in two acute lymphoblastic leukemia protocols (NOPHO ALL-1992 versus NOPHO ALL-2000): a single-institution study. Pediatr Hematol Oncol 2006;3: 207-16.
- Duval M, Suciu S, Ferster A, Rialland X, et al. Comparison of Escherichia coli-asparaginase with Erwinia-asparaginase in the treatment of childhood lymphoid malignancies: results of a randomized European Organization for Research and Treatment of Cancer-Children's Leukemia Group phase 3 trial. Blood 2002;99:2734-9.
- Nowak-Gottl U, Heinecke A, Von Kries R, Nurnberger W, et al. Thrombotic events revisited in children with acute lymphoblastic leukemia: impact of concomitant Escherichia coli asparaginase/prednisone administration. Thromb Res 2001;103:165-72.
- Athale UH, Chan AK. Thromboembolic complications in pediatric hematologic malignancies. Semin Thromb Hemost 2007;33:416-26.

9. Nowak-Gottl U, Ahlke E, Fleischhack G, Schwabe D, et al. Thromboembolic events in children with acute lymphoblastic leukemia (BFM protocols): prednisone versus dexamethasone administration. *Blood* 2003;101:2529-33.
10. Athale UH, Siciliano SA, Crowther M, Barr RD, Chan AK. Thromboembolism in children with acute lymphoblastic leukaemia treated on Dana-Farber Cancer Institute protocols: effect of age and risk stratification of disease. *Br J Haematol* 2005;129:803-10.
11. Athale UH, Chan AK. Thrombosis in children with acute lymphoblastic leukemia. Part II. Pathogenesis of thrombosis in children with acute lymphoblastic leukemia: effects of the disease and therapy. *Thromb Res* 2003;111:199-212.
12. Mitchell LG, Andrew M, Hanna K, Abshire T, et al. Prophylactic Antithrombin Replacement in Kids with Acute Lymphoblastic Leukemia Treated with Asparaginase Group (PARKAA). A prospective cohort study determining the prevalence of thrombotic events in children with acute lymphoblastic leukemia and a central venous line who are treated with L-asparaginase: results of the Prophylactic Antithrombin Replacement in Kids with Acute Lymphoblastic Leukemia Treated with Asparaginase (PARKAA) Study. *Cancer* 2003;97:508-16.
13. Athale UH, Chan AK. Thrombosis in children with acute lymphoblastic leukemia: part I. Epidemiology of thrombosis in children with acute lymphoblastic leukemia. *Thromb Res* 2003;111:125-31.
14. Hill FG, Richards S, Gibson B, Hann I, et al. Successful treatment without cranial radiotherapy of children receiving intensified chemotherapy for acute lymphoblastic leukaemia: results of the risk-stratified randomized central nervous system treatment trial MRC UKALL XI (ISRC TN 16757172). The UK Medical Research Council Working Party on Childhood Leukaemia. *Br J Haematol* 2004;124:33-46.
15. Laffan MA, Manning RA. Investigation of a thrombotic tendency. In: Lewis SM, Bain BJ, Bates I, editors. *Dacie and Lewis practical haematology*, 9th ed. London: Churchill Livingstone 2001;pp:391-413.
16. Guglielmone HA, Vides MA. A novel functional assay of protein C in human plasma and its comparison with amidolytic and anticoagulant assays. *Thromb Haemost* 1992;67:46-49.
17. Laroche P, Plassart V, Amiral J. Rapid quantitative latex immunoassays for diagnosis of thrombotic disorders. *Thromb Haemost* 1989;62:379-82.
18. Ruiz-Arguelles A, Rivadeneyra-Espinoza L, Duque RE, Orfao A (on behalf of the participants of the Latin American Consensus Conference). Report on the Second Latin American consensus conference for flow cytometric immunophenotyping of hematological malignancies. *Cytometry B Clin Cytom* 2006;70:39-44.
19. Moghrabi A, Levy DE, Asselin B, Barr R, et al. Results of the Dana-Farber Cancer Institute ALL Consortium Protocol 95-01 for children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2007;109:896-904.
20. Oner AF, Gurgey A, Kirazli S, Okur H, Tunc B. Changes of hemostatic factors in children with acute lymphoblastic leukemia receiving combined chemotherapy including high dose methylprednisolone and L-asparaginase. *Leuk Lymphoma* 1999;33:361-4.
21. Jaime Perez JC, Gomez Almaguer D. The complex nature of the prothrombotic state in acute lymphoblastic leukemia of childhood. *Haematologica* 2003;88:ELT25.