

HEMATOLOGIA

ARTÍCULO ORIGINAL

Influencia de los hallazgos citogenéticos y moleculares en el pronóstico y respuesta a tratamiento de pacientes con leucemia mieloide aguda

Manifestaciones clínicas, factores pronósticos y respuesta terapéutica del síndrome hemofagocítico: experiencia del HCJSM

Valoración del tiempo en rango terapéutico en pacientes bajo tratamiento con antagonistas orales de la vitamina K en un centro de anticoagulación

Consideraciones para el uso del equivalente de hemoglobina reticulocitaria en la práctica diaria

Profilaxis secundaria con rFVIII Fc en adultos jóvenes con hemofilia A severa

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Recomendaciones para el descarte de productos de CPH/linfocitos criopreservados: consenso del Grupo Argentino de Trasplante de Médula Ósea (GATMO)

Cambios hematopoyéticos en el inicio de las enfermedades infecciosas y autoinmunes
Anemias hemolíticas autoinmunes, diagnóstico y tratamiento

CASO CLÍNICO

Células de tipo Sézary en leucemia/linfoma T del adulto

NUEVAS DROGAS

Moxetumomab pasudotox.
Inmunotoxina recombinante anti-CD22

COMUNICACIONES BREVES

Determinación del factor Von Willebrand antigénico para la confirmación de la enfermedad de Von Willebrand en Nicaragua

LABORATORIO

ADAMTS-13: diagnóstico de laboratorio

CORREO DE LECTORES

¿Cabe un tratamiento con ruxolitinib en el síndrome respiratorio agudo severo por COVID-19?

IN MEMORIAN

Recordando al Dr. Héctor Longoni

IMÁGENES EN HEMATOLOGÍA

Células neoplásicas de un carcinoma papilar de tiroides en sangre periférica





LIDERA EL CAMINO

EN EL TRATAMIENTO DEL LINFOMA DE HODKING
PARA PACIENTES EN PRIMERA LÍNEA

ADCETRIS® + AVD ofrece una eficacia superior con respecto a la SLPm vs. ABVD, sin riesgo de toxicidad por bleomicina. (hazard ratio per IRF: 0.77 [95% CI: 0.60, 0.98; P=0.035]).^{1,2}

Con ADCETRIS® + AVD, un 33 % menos de pacientes recibieron quimioterapia de salvataje o HDT + TCM vs. ABVD.²

ADCETRIS® + AVD ADCETRIS® (brentuximab vedotin) presenta un perfil manejable de eventos adversos.²
Se recomienda el uso de prolaxis primaria con G-CSF en todos los pacientes (desde el ciclo 1).¹

ABVD: doxorubicina + bleomicina + vinblastina + dacarbazina; AVD: doxorubicina + vinblastina + dacarbazina;
G-CSF: factores estimulantes de colonia
HDT: Altas dosis de quimioterapia
IRF: Comité de revisión independiente
TCM: Trasplante de células madres

Referencias: 1. ADCETRIS [Información para la prescripción]. 2. Connors JM, et al. *N Engl J Med.* 2018;378(4):331-344.



Información para prescribir
disponible en el código QR



ONCOLOGÍA

HEMATOLOGÍA

ÓRGANO DE DIFUSIÓN DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE HEMATOLOGÍA

Esta revista está indizada en la Base de Datos LILACS, BIREME BRASIL, LATINDEX,
Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC Data Bases)

Red Iberoamericana de Innovación y Conocimiento Científico - REDIB, DOAJ

ISSN: 0329-0379 (versión impresa)

ISSN: 2250-8309 (versión en línea)



Comisión Directiva

Presidente: Dr. Germán Stemmelin - Hospital Británico, CABA, Argentina **Vice-Presidente:** Dr. Juan Carlos Dupont - Cemic, CABA, Argentina **Secretario:** Dra. Ana Basquiera - Hospital Privado de Córdoba, Argentina
Secretario de Actas: Dr. Daniel Gotta - Cemic, CABA, Argentina
Tesorera: Dra. Juliana Martínez Rolón - Fundaleu, CABA, Argentina

Director: Dr. José Ceresetto, Hospital Británico, CABA

Secretaria de Redacción: Dra. Cristina Duboscq, Hospital Británico, CABA

Comité Editor

Brodsky, Andrés - Hospital de Clínicas J de San Martín, Bs. As., Argentina

Deana, Alejandra - Hospital Posadas, El Palomar, Bs. As., Argentina

Fantl, Dorotea - Hospital Italiano de Bs. As., Bs. As., Argentina

Martinuzzo, Marta - Hospital Italiano de Bs. As., Bs. As., Argentina

Verón, David - Hospital Universitario Austral, Bs. As., Argentina

Mariela Escalante
Producción y Comercialización

Glicela Díaz
Diseño gráfico

Dr. Gustavo Chiappe
Corrector Gramatical

Consejo Científico Asesor

Arbelbide Jorge
Hospital Italiano, CABA, Argentina

Aversa, Luis
Hospital de Niños R Gutiérrez,
CABA, Argentina

Bengiú, Raquel
Academia Nacional de Medicina,
CABA, Argentina

Bertolaccini María Laura
King's College London, UK

Bezares, Raimundo
Hospital Álvarez, CABA., Argentina

Bullorsky, Eduardo
Hospital Británico, CABA, Argentina

Casais, Patricia
Centro de Hematología Pavlovsky,
CABA, Argentina

Castro Ríos, Miguel
Centro de Hematología Clínica
de San Isidro. Argentina

De Goycochea, Diego
CHUV (Centre Hospitalier
Universitaire Vaudois), Lausanne - Suiza

Dibar, Eduardo
Hospital Italiano, CABA, Argentina

Di Ghiero, Guillermo
Inst. Pasteur de Montevideo, Uruguay

Donato, Hugo
Hospital de Niños, San Justo,
Bs. As., Argentina

Dupont, Juan
CEMIC - CABA, Argentina

Erramouspe, Beatriz
Hospital César Milstein,

CABA, Argentina

Feldman, Leonardo
Fund. Favaloro, CABA, Argentina

Feliu Torres, Aurora
Hospital Garrahan, CABA, Argentina

Fernández, Isolda
FUNDALEU. CABA. Argentina.

Flores, Gabriela
Hospital Durand, CABA, Argentina.

Foncuberta Cecilia
Instituto Alexander Fleming,
CABA, Argentina

Fondevila, Carlos
Sanatorio Bazterrica, CABA, Argentina

Forastiero, Ricardo
Fund. Favaloro, CABA, Argentina

Guillermo, Cecilia
Hospital de Clínicas Dr. M. Quintela,
Montevideo, Uruguay

Heller, Paula
IDIM E Lanari, CABA, Argentina

Jaimovich Gregorio
Fund. Favaloro - S. Anchorena.
CABA, Argentina

Kordich, Lucía
Fac Ccias Exactas, UBA, CABA, Argentina

Korin, Jorge
Sanatorio Los Arcos, CABA, Argentina

Kuperman, Silvina
Hospital de Pediatría Garrahan
Bs. As., Argentina

Kusminsky, Gustavo
Hospital Austral, Pilar,
Bs. As., Argentina

Larripa, Irene
Academia Nacional de Medicina,
CABA, Argentina

Lastrebnier, Marcelo
Sanatorio Sagrado Corazón,
CABA, Argentina

Lazarowski, Alberto
Fac Farmacia y Bioquímica UBA,
CABA, Argentina

Martínez Rolón, Juliana
FUNDALEU, CABA, Argentina

Mateos, María Victori
Complejo Asistencial Universitario
de Salamanca/IBSAL. España

McIntock Claire
National Womens Health,
City Hospital, Auckland, New Zealand

Milone, Jorge
Hospital Italiano, La Plata, Argentina

Milovic, Vera.
Hospital Alemán, CABA, Argentina.

Moiraghi, Beatriz
Hospital J.M. Ramos Mejía,
CABA, Argentina

Neme, Daniela
Fundación de la Hemofilia.
CABA, Argentina

Nucifora, Elsa
Hospital Italiano, CABA, Argentina

Oleastro Matías
Hospital Garrahan, CABA, Argentina

Pavlovsky, Astrid
Centro de Hematología Pavlovsky.
CABA, Argentina

Picón, Armando
Hospital Posadas, Bs. As., Argentina

Pizzolato, Marco
Fac Farmacia y Bioquímica UBA,
CABA, Argentina

Ponzinibio, Carlos
Hospital Italiano, Bs. As., Argentina

Prates, Virginia
Hosp. Italiano, La Plata, Argentina

Quiroga, Luis
Hospital Churruga, CABA, Argentina

Rey, Irene
Hospital José María Ramos Mejía,
CABA, Argentina

Riveros, Dardo
CEMIC, CABA, Argentina

Sánchez Ávalos, Julio
Instituto Fleming, CABA, Argentina

Schattner, Mirta
CONICET / Academia Nacional
de Medicina, CABA, Argentina

Shanley, Claudia
Hospital Británico. CABA, Argentina

Tartas, Norma
Instituto Fleming, CABA, Argentina

Tezanos Pinto, Miguel
Academia Nacional de Medicina,
CABA, Argentina

Wannesson, Luciano
Instituto Oncológico della Svizzera Italiana
Bellinzona, Suiza

Zerga, Marta
Hospital Roffo, CABA, Argentina

VOLUMEN 24 N° 1 • Enero - Abril 2020 • Publicada en Abril de 2020 • Buenos Aires, Argentina

Edición: Sociedad Argentina de Hematología: Julián Alvarez 146 - C1414 DRD - TEL/FAX: (54-11) 4855-2452 / 2485

www.sah.org.ar / e-mail: revista@sah.org.ar / contacto: Mariela Escalante

Hematología se distribuye cuatrimestralmente en forma gratuita a los miembros de la Sociedad Argentina de Hematología

Se publica en abril, agosto y diciembre de cada año

Registro de la Propiedad Intelectual N° 155751

El contenido de los artículos y de los avisos publicitarios no reflejan necesariamente la opinión del Editor





MÁS EFICACIA MÁS POSIBILIDADES

MYVITLA® (ixazomib) es el primer y único inhibidor de proteosoma oral aprobado para el tratamiento de pacientes con mieloma múltiple que han recibido al menos un tratamiento previo.^{1,2}

SLP superior con MYVITLA® (ixazomib) +len/dex vs. placebo+len/dex^{2*}

- Mejoría de aproximadamente 6 meses en la mediana de la SLP (20,6 vs. 14,7 meses; HR=0,742; P=0,012).^{2†}

Perfil de seguridad sostenible para la mayoría de los pacientes^{3,4}

- La mayoría de los pacientes (76 %) pudieron continuar el tratamiento oral extendido con MYVITLA® (ixazomib) sin necesidad de reducir la dosis.^{3‡}

² Administración oral simplificada.

* Resultados del estudio pivotal fase III TOURMALINE-MM1— estudio clínico global, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, diseñado para evaluar la superioridad de MYVITLA® (ixazomib) +len/dex administrado por vía oral una vez a la semana respecto de placebo+len/dex en 722 pacientes adultos con mieloma múltiple en recaída/refractario.

El análisis estadístico primario y final de la SLP ocurrió a los 14,7 meses (mediana del seguimiento). Se realizaron otros análisis de seguridad y sobrevida global a los 23 meses (mediana del seguimiento).^{2,4}


[†] En el análisis primario y final de la mediana de seguimiento de 14,7 meses.

[‡] En la mediana de seguimiento de 23 meses.

Para más información, consulte el Resumen de las características del producto.

REFERENCIAS: 1. Moreau P, Masszi T, Grzasko N, *et al*. Abstract 727 presented at: American Society of Hematology 57th Annual Meeting; December 5-8, 2015; Orlando, FL. 2. Resumen de las características de producto para MYVITLA® (ixazomib). Taastrup, Denmark: Takeda Pharma A/S; 2016. 3. Data on File NIN-005, Takeda Pharmaceuticals International Co. 4. Moreau P, Masszi T, Grzasko N, *et al*; for TOURMALINE-MM1 Study Group. *N Engl J Med*. 2016;374(17):1621-1634.



Takeda Oncología y  son marcas registradas de Takeda Pharmaceutical Company Limited. El resto de las marcas registradas son propiedad de sus respectivos titulares. Copyright © 2016, Millenium Pharmaceuticals, Inc. Todos los derechos reservados.

Takeda Pharma SA - Tronador 4890 7° P - C1430DNN - CABA - Tel: +54 (011) 4546-4700
www.takedaargentina.com



Información para prescribir
disponible en el código QR

HEMATOLOGÍA

ARGENTINA

VOLUMEN 24 Nº 1 • Abril 2020

CONTENIDO

ARTÍCULO ORIGINAL

Influencia de los hallazgos citogenéticos y moleculares en el pronóstico y respuesta a tratamiento de pacientes con leucemia mieloide aguda

Belli C; Correa W; González J; Ferrari L; Dick H; Cranco S; Moirano M; Rapán ML; Oliveira N; Kornblihtt L, Suero A; Navickas A, Giménez Conca AD...... 9

Manifestaciones clínicas, factores pronósticos y respuesta terapéutica del síndrome hemofagocítico: experiencia del HCJSM

Lavalle J; Minissale C; Carnelutto N; Rojas F; Gómez M; Brodsky A...... 21

Valoración del tiempo en rango terapéutico en pacientes bajo tratamiento con antagonistas orales de la vitamina K en un centro de anticoagulación

González FL, González Silva NE, Ortell Tomada GM, Sancassani PE, Mathieu ME...... 32

Consideraciones para el uso del equivalente de hemoglobina reticulocitaria en la práctica diaria

Fiorentini L; Paoletti M; García A; García A; Ferreras R; Cerviño F; García D...... 40

Profilaxis secundaria con rFVIIIc en adultos jóvenes con hemofilia A severa

Neme D; Elhelou L; Cocca A; Primiani L...... 49

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

Recomendaciones para el descarte de productos de CPH/linfocitos criopreservados: consenso del Grupo Argentino de Trasplante de Médula Ósea (GATMO)

Basquiera AL, Tisi Baña F, Ferini GA, Makiya ML, Burgos Pratz L, Milovic V, Jaimovich G, García JJ, Arbelbide JA, Abichain P y miembros del GATMO...... 54

Cambios hematopoyéticos en el inicio de las enfermedades infecciosas y autoinmunes

Maydana L...... 59

Anemias hemolíticas autoinmunes, diagnóstico y tratamiento

Maldonado Rojas M; Toro Opazo C...... 70

CASO CLÍNICO

Células de tipo Sézary en leucemia/linfoma T del adulto

Caballero D, Rapan L, Vallejo RE, De la Hoz C, Mejía M, Kohan D, Iastrebner M. 81

NUEVAS DROGAS

Moxetumomab pasudotox. Inmunotoxina recombinante anti-CD22

Sackmann F, Patronella V. 86

COMUNICACIÓN BREVE

Determinación del factor von Willebrand para la confirmación de la enfermedad de von Willebrand en Nicaragua

Pernudy A, Marcia A, Gutiérrez D, Bonilla O, Berríos R. 91

LABORATORIO

ADAMTS-13: diagnóstico de laboratorio

Lencinas G; Perés S; Aranda F; de Larrañaga G. 95

CORREO DE LECTORES

¿Cabe un tratamiento con ruxolitinib en el síndrome respiratorio agudo severo por COVID-19?

Dr Claudio Marcelo Iastrebner. 101

IN MEMORIAN

Recordando al Dr. Héctor Longoni

Grand B. 104

IMÁGENES EN HEMATOLOGÍA

Células neoplásicas de un carcinoma papilar de tiroides en sangre periférica

Rey Deutsch AC, Brodsky AL, Carnelutto NE, Rojas F, Minissale C, Corzo A, Marsol N, Martínez E, Lavalle J. 107

NUEVO
PRODUCTO



IDELIB®

Idelalisib

MECANISMO DE ACCIÓN INNOVADOR

Idelib® es un inhibidor selectivo de la fosfatidilinositol 3-quinasa delta (PI3K δ), que induce la apoptosis e inhibe la proliferación de las líneas celulares derivadas de los linfocitos B malignos

Idelalisib está indicado en monoterapia para el tratamiento de los pacientes adultos con Linfoma Folicular (LF) refractario a dos líneas de tratamiento anteriores.¹

Idelalisib está indicado en combinación con un anticuerpo monoclonal anti-CD20 (rituximab u ofatumumab) para el tratamiento de pacientes adultos con Leucemia Linfocítica Crónica (LLC) bajo las siguientes condiciones¹:

- ▶ *pacientes que hayan recibido al menos un tratamiento anterior, o bien*
- ▶ *como tratamiento de primera línea en presencia de delección en 17p o mutación de TP53 en pacientes que no son adecuados para recibir ningún otro tratamiento.*

¹) Según último prospecto aprobado por M.S. D.S. ANMAT, Octubre de 2019.

Especialidad medicinal autorizada por el
Ministerio de Salud. Certificado N° 59.078/19



ARGENTINA • BRASIL • CHILE • COLOMBIA
ECUADOR • PARAGUAY • PERÚ • URUGUAY

Información del producto
disponible en el código QR



Uruguay 3698 (B1643EZ), Béccar
Buenos Aires, Argentina.
Tel.: +5411 4723-2830
www.varifarma.com.ar
farmacovigilancia@varifarma.com.ar

Influencia de los hallazgos citogenéticos y moleculares en el pronóstico y respuesta a tratamiento de pacientes con leucemia mieloide aguda



ARTICULO
ORIGINAL

Influence of cytogenetic and molecular findings on prognosis and response to treatment of patients with acute myeloid leukemia

Belli C^{1#†}; Correa W^{2,3#}; González J^{4†}; Ferrari L^{5†}; Dick H^{3†}; Cranco S^{6†}; Moirano M^{7†}; Rapán ML^{8†}; Oliveira N^{9†}; Kornblihtt L^{10‡}; Suero A^{11†}; Navickas A^{12†}; Giménez Conca AD^{12†}.

HEMATOLOGÍA
Volumen 24 Nº 1: 9-20
Enero - Abril 2020

¹ Laboratorio de Genética Hematológica, Instituto de Medicina Experimental (IMEX-CONICET)/Academia Nacional de Medicina, Ciudad de Buenos Aires;

² Hospital Italiano de Buenos Aires, Ciudad de Buenos Aires;

³ Hospital Italiano de La Plata, La Plata;

⁴ Hospital General de Agudos "Carlos Durand", Ciudad de Buenos Aires;

⁵ FUNDALEU, Ciudad de Buenos Aires;

⁶ Instituto "Alexander Fleming", Ciudad de Buenos Aires;

⁷ Hospital Interzonal General de Agudos "San Martín", La Plata;

⁸ Sanatorio "Sagrado Corazón", Ciudad de Buenos Aires;

⁹ Hospital Nacional "A Posadas", El Palomar;

¹⁰ Hospital de Clínicas "José de San Martín", Universidad de Buenos Aires, Ciudad de Buenos Aires;

¹¹ Hospital "Cesar Milstein", Ciudad de Buenos Aires;

¹² Hospital de Alta Complejidad "El Cruce", Florencio Varela.

[#] En representación de la Subcomisión de Síndromes Mielodisplásicos, Sociedad Argentina de Hematología.

[†] En representación de la Subcomisión de Leucemias Agudas, Sociedad Argentina de Hematología.

cbelli@hematología.anm.edu.ar

Fecha recepción: 17/4/2020

Fecha aprobación: 24/4/2020

TRABAJO PRESENTADO EN SESIÓN PLENARIA EN MARCO DEL XXIV CONGRESO ARGENTINO DE HEMATOLOGÍA.

Palabras claves: leucemia mieloide aguda, cariotipo, hallazgos moleculares, pronóstico, respuesta a tratamiento.

Keywords: acute myeloid leukemia, karyotypes, molecular findings, prognosis, treatment response.

Resumen

La mayoría de las determinaciones moleculares detalladas según la ELN2017 resultan de difícil acceso en nuestro medio y el cariotipo mantiene su importancia al indicar el tratamiento de los pacientes con leucemia mieloide aguda. Nuestro objetivo fue evaluar la influencia del cariotipo y de los hallazgos moleculares disponibles en relación a la supervivencia global (SG) y respuesta al tratamiento.

Se realizó un análisis retrospectivo de 688 pacientes (pertenecientes a 11 instituciones, diagnosticados entre ene-13/jun-19), de los cuales 592 (86%) fueron evaluables. Los 196 pacientes con cariotipo alterado, 104 (55%) vinculables a síndromes mielodisplásicos, mostraron una distribución heterogénea según los nueve sistemas aplicados (adverso: rango 47%-CECOG-SWOG-MDACC hasta 99%-Keating). La mayoría de los sistemas fueron útiles para predecir SG, con superioridad para el definido por CECOG-SWOG-MDACC (intermedio 10 m vs adverso 6 m, HR1,6 p=0,007) y entre aquéllos que recibieron un trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) (intermedio no alcanzada-NA vs adverso 14,5 m, HR2,5 p=0,053). En cuanto al tratamiento con agentes hipometilantes en 1ª línea (N 41), excluyendo o no a los que recibieron TCPH (N 4), ninguno fue útil para diferenciar SG (9 m), tasas de remisiones completas (RC) ni mejor respuesta. Al evaluar quimioterapia, los sistemas CECOG-SWOG-MDACC y ELN2010 fueron los mejores predictores censurando (13 vs 8 m, p=0,023 y 15 vs 8 m, p=0,018) o no hasta el TCPH (p=0,009 y p=0,005). Sin embargo, sólo el primero fue útil para diferenciar tasas de RC (51/70, 73% vs 28/54, 52%, p=0,023).

Finalmente, se compararon los hallazgos frente a la t(15;17) (N 77, SG NA) tomando la categorización del CECOG-SWOG-MDACC para los cariotipos alterados: CBF (N 65, SG NA) HR1,6 p=0,184; cariotipo-normal/*NPM1*+/*FLT3*- (N 26, SG NA) HR2,3, p=0,057; cariotipo-normal/*NPM1*-/*FLT3*- (N 102, SG 14 m) HR4,2, p<0,001; cariotipo-alterado/intermedio (N 101, 10 m) HR5,6, p<0,001; cariotipo-normal/*NPM1*-/*FLT3*+ (N 21, 9 m) HR6,1, p<0,001; cariotipo-alterado/adverso (N 88, 6 m) HR8,2, p<0,001 y cariotipo-normal/*NPM1*+/*FLT3*+ (N 12, SG 7 m) HR9,9, p<0,001 (*CEPBA* disponible en N 62, no evaluable). La mayoría de los riesgos se incrementaron al excluir los TCPH.

Los resultados obtenidos comprueban el buen pronóstico de los pacientes con t(15;17), rearrreglos *CBF* y de *NPM1*+ con cariotipo normal. Mientras que la detección de *FLT3*+ se asoció con un pronóstico adverso, independiente de *NPM1*+. El sistema definido por el CECOG-SWOG-MDACC, el cual considera de mal pronóstico a los cariotipos complejos y -5/-7, es el que mejor refleja los parámetros evaluados. Sin embargo, las alteraciones recomendadas por la ELN2010 reord3q, 5q-, t(6;9); 11q23v y 17p-, también influirían en la SG frente al tratamiento con quimioterapia en 1ª línea.

Summary

The ELN2017 stratification has proved useful in predicting the outcome for acute myeloid leukemia (AML). However, some molecular determinations detailed are limited in use in our media and the karyotype remains an important factor regarding therapy. Our aim was to evaluate the predictive capacity of different cytogenetic and molecular findings on the outcome of patients with AML.

Data was informative in 592 patients (pt) (from a retrospective cohort of 688 pt diagnosed in 11 Argentine centers between Jan/13-Jun/19). The overall survival (OS) concerning genetic data was different: t(15;17), 77 pt, not reached (NR); *CBF* rearrangements, 65 pt, NR; normal karyotype, 254 pt, 13 m, and abnormal karyotype, 196 pt, 8 m; p<0.001.

Regarding normal karyotype, combined data according to the ELN2010 showed differences in the outcome: *NPM1*+/*FLT3*-, 26 pt, NR; *NPM1*-/*FLT3*-, 102 pt, 14 m; *NPM1*-/*FLT3*+, 21 pt, 9 m; *NPM1*+/*FLT3*+, 12 pt, 7 m; p=0.025 (*CEPBA* available 62 pt, no evaluable).

Adverse karyotypes were heterogeneously distributed among 9 systems: 47% CECOG-SWOG-MDACC to 99% Keating-classification, and 104 (55%) with changes related to myelodysplastic syndromes. The CECOG-SWOG-MDACC showed superiority to differentiate between intermediate vs adverse for OS (10 vs 6 m, p=0.004; HR1.6, p=0.007, Cox's regression) and, in the limit, for those who undergone hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) (NA vs 15 m, p=0.033; HR 2.5, p=0.053). Regarding hypomethylating agents (41 pt) as first line therapy none was useful to differentiate OS (9 m), complete remission (CR) or best response. When chemotherapy was evaluated, the CECOG-SWOG-

MDACC and ELN2010 were similar censoring (13 vs 8 m, $p=0.023$ and 15 vs 8 m, $p=0.018$) or not censoring at HSCT (14 vs 8 m, $p=0.009$, and 16 vs 8 m, $p=0.005$). However, only the first one made a difference in CR rates (73% vs 52%, $p=0.023$), with a tendency for any therapy ($p=0.057$).

Finally, all findings were compared, selecting $t(15;17)$ as reference and applying the CECOG-SWOG-MDACC: *CBF HRI.6* $p=0.184$; normal karyotype *NPM1+/FLT3-* HR2.3, $p=0.057$; normal karyotype *NPM1-/FLT3-* HR4.2, $p<0.001$; intermediate HR5.6, $p<0.001$; normal karyotype *NPM1-/FLT3+* HR6.1, $p<0.001$; normal karyotype *NPM1+/FLT3+* HR9.9, $p<0.001$, and adverse HR8.2, $p<0.001$. These HRs increased when excluding HSCT, especially for *FLT3+*.

Our results are in agreement with the favorable outcome of $t(15;17)$, *CBF* rearrangement and *NPM1+/FLT3-* in those with normal karyotype, whereas *FLT3+* was an adverse finding. Complex karyotypes, -5 and -7, according CECOG-SWOG-MDACC, were associated with shorter OS and lower CR. However, when $rearr3q$, $5q-$, $t(6;9)$, $11q23v$ and $17p-$ were also included, according to ELN2010, they account for a shorter OS in those treated with chemotherapy.

Introducción

La clasificación de los hallazgos citogenéticos y moleculares de acuerdo a las recomendaciones de la Red Europea de Leucemia (*European Leukemia Net*, ELN) 2017⁽¹⁾ para los pacientes con leucemia mieloide aguda (LMA) ha sido validada en diversas series⁽²⁾. Este sistema incorpora, además de la detección de las mutaciones en *CEPBA* y en *NPM1*⁽³⁾, la relación alelo mutado/normal para las duplicaciones internas en tándem (DIT) del *FLT3* y la presencia de mutaciones en los genes *TP53*, *RUNX1* y *ASXL1*⁽¹⁾, la mayoría de las cuales resultan de difícil acceso en nuestro medio y el cariotipo se mantiene como un parámetro importante al decidir el abordaje terapéutico.

La adjudicación del riesgo de las alteraciones citogenéticas, sobre todo de las de menor frecuencia, varía en diversos sistemas (Ver Anexo) dependiendo, mayoritariamente, del resultado planteado⁽¹⁻¹¹⁾. Sin embargo, la presencia de cariotipos complejos, que involucren más de 3 alteraciones citogenéticas, o la pérdida del cromosoma 7 se asocian invariable-

mente con un pronóstico desfavorable en todos los sistemas de predicción. La propuesta del Grupo B de Cáncer y Leucemia (CALGB) predeciría el éxito de la inducción, la recaída y la supervivencia global (SG) frente a esquemas similares de inducción con citarabina y daunorrubicina, incluyendo a la trisomía 8 como un hallazgo adverso⁽⁴⁾. Por su parte, los cariotipos que muestran valor pronóstico independiente para evaluar los resultados de las quimioterapias (QMT) basadas principalmente en citarabina, se reducen en un estudio entre el grupo Combinado Cooperativo de Oncología del Este (CECOG), del Sudoeste (SWOG) y el *M. D. Anderson Cancer Center* (MDACC)⁽⁵⁾. El grupo cooperativo Germano de LMA (AMLG) evaluó el éxito del trasplante alogénico de precursores hematopoyéticos (TACPH) en un grupo de pacientes de alto riesgo según un sistema definido previamente⁽⁶⁾. El sistema germano original evaluaba esquemas de inducción basados en citarabina y mitoxantrona seguidos o no de un trasplante autólogo⁽⁷⁾. El Consejo de Investigaciones Médicas del Reino Unido (MRC) también estableció su propia clasificación basada en los resultados de ensayos clínicos de una población de 5876 adultos jóvenes. Este sistema toma en consideración, entre otros hallazgos de alto riesgo, a los cariotipos complejos cuando presentan un mínimo de 4 alteraciones citogenéticas⁽⁸⁾. En el año 2015 se publicó un estudio colaborativo comparativo entre pacientes con LMA de novo (AML-10) y secundarios o con síndromes mielodisplásicos (SMD) de alto riesgo (CRIANT) que recibieron el mismo esquema de inducción y consolidación⁽⁹⁾. Los autores utilizaron el sistema de predicción de riesgo internacional IPSS⁽¹⁰⁾ adaptado y una estadificación de riesgo según Keating y col., la cual clasifica como de riesgo adverso todos los cariotipos alterados con excepción de la pérdida del Y⁽¹¹⁾.

Dada la heterogeneidad de la distribución de las alteraciones citogenéticas, nuestro objetivo fue evaluar la influencia del cariotipo, los hallazgos moleculares y su distribución en diversos sistemas de clasificación de riesgo en relación a la sobrevida y respuesta al tratamiento.

Métodos

Se realizó un análisis retrospectivo de 688 pacientes, pertenecientes a 11 instituciones argentinas, diagnosticados entre ene-13/jun-19. Se aplicaron 9

sistemas de clasificación de riesgo^(1,3-6,8,10,11), incluyendo la categorización de los hallazgos vinculados a SMD de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) 2016⁽¹²⁾. El número de alteraciones fue evaluada de acuerdo al MRC⁽⁸⁾ (1 alteración para las trisomías, monosomías, translocaciones balanceadas, 2 para las alteraciones desbalanceadas, por ejemplo: add(7)(q11.2) implica delección del brazo largo del cromosoma 7 con material agregado de origen desconocido).

Se aplicaron los test de Kaplan-Meier/log-rank, Regresión de Cox (Método avanzar por pasos y de entrada) y Chi2/Test exacto de Fisher. Los pacientes fueron evaluados hasta último seguimiento, censurando o no hasta la fecha del TCPH. El nivel de significancia estadística fue fijado en $p < 0,05$. Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el sistema SPSS versión 25.00 (SPSS, Chicago, USA). Los resultados se expresan según sea el caso, en mediana (Mdn) e intervalo de confianza (IC) 95% o porcentaje \pm error estándar.

Resultados

Los 592 (86%) pacientes con resultados evaluables presentaron distribución similar de sexo (masculino: 51%), edad Mdn de 57 años (15-90), 28% mayores de 65 años y 40% con características vinculables a LMA secundaria. Con una Mdn de seguimiento de 8 meses (m) (rango: 0-73), la cual se incrementa a 18 m al considerar la cohorte viva (324 eventos de muerte, 55%), la SG fue de 11 m (IC95% 9-14).

La SG de la serie mostró diferencias significativas al evaluarla de acuerdo a la presencia de la t(15;17)/PML-RARA, de los reordenamientos CBF, del cariotipo normal o de otras alteraciones (Figura 1a, $p < 0,001$). Los 77 pacientes con t(15;17) y los 65 con rearrreglos CBF no alcanzaron (NA) la Mdn, con $81\% \pm 5\%$ y $64\% \pm 7\%$ vivos a los 30 m, sin diferencias en la determinación por citogenética convencional (51 y 52) o por técnicas moleculares (26 y 13) en aquéllos con cariotipo normal o no evaluable ($p > 0,05$).

En relación a los 254 pacientes con cariotipo normal (Mdn 13 m, IC95% 8-17 m, Figura 1a), 88 (35%) presentaban características vinculables con LMA secundaria. El CEPBA fue evaluado en 62 pacientes (24%), 8 de los cuales resultaron CEPBA+ (13%) con una Mna NA vs 15 m para los CEPBA-, $p = 0,552$. Además, 2 de los pacientes CEPBA+ re-

sultaron FLT3+ (dado el número reducido de los pacientes analizados, estos resultados no fueron considerados). El estudio NPM1 fue evaluable en 164 (NPM1+ 24%, Mna 9 ± 7 m vs 13 ± 3 m, $p = 0,579$) y el FLT3 en 180 (FLT3+ 22%, Mna 9 ± 1 m vs 18 ± 5 m). Al dividir los 161 (61%) pacientes de acuerdo a la ELN2010⁽³⁾ (ratio FLT3 disponible sólo en 2 pacientes), la evolución hasta el último seguimiento fue diferente: NPM1+/FLT3- (26 pacientes, NA: 75% vivos a los 9 ± 2 m) vs NPM1-/FLT3- (102 pacientes, 14 ± 3 m) vs NPM1-/FLT3+ (21 pacientes, 9 ± 2 m) vs NPM1+/FLT3+ (12 pacientes, 7 ± 0 m), $p = 0,025$ (Figura 1b).

Los 196 cariotipos alterados (Mdn 8 m, IC95% 6-9 m, figura 1a), 104 (55%) vinculables a SMD, mostraron una distribución heterogénea según el sistema (adverso: rango 47% según CECOG-SWOG-MDACC hasta 99%, según Keating y col., Tabla 1). La mayoría de los sistemas utilizados fueron útiles para predecir SG, con una superioridad para el definido por CECOG-SWOG-MDACC (HR1,6 $p = 0,007$; intermedio vs adverso: 10 vs 6 m, $p = 0,004$). Con respecto a aquéllos que recibieron un TCPH, el mismo sistema mostró superioridad límite (HR 2,5 $p = 0,053$, intermedio vs adverso: NA vs 14,5 m, $p = 0,033$) con respecto al IPSS, agrupando los riesgos bajo e intermedio a fines estadísticos ($p = 0,041$).

Los pacientes con cariotipos alterados fueron evaluados en relación al tratamiento recibido en primera línea. En cuanto al tratamiento con agentes hipometilantes (AHM) (41 pacientes), incluyendo a los 4 pacientes que recibieron TCPH (Mna 9 m) o no (Mna 8 m), ninguno mostró diferencias significativas en relación a la SG, tasas de remisiones completas (RC 9/41, 22%) ni mejor respuesta (MR 21/41, 51%) (Tabla 1). Al evaluar QMT los sistemas CECOG-SWOG-MDACC y ELN2010 fueron los mejores predictores censurando (13 vs 8 m, $p = 0,023$ y 15 vs 8 m, $p = 0,018$) o no hasta el TCPH (14 vs 8 m, $p = 0,009$, y 16 vs 8 m, $p = 0,005$). Sin embargo, sólo el primero fue útil para diferenciar tasas de RC (51/70, 73% vs 28/54, 52%, $p = 0,023$), con una tendencia frente al empleo de cualquier tratamiento ($p = 0,057$ test exacto de Fisher; $p = 0,041$ según test de Chi2).

Finalmente, y en base a los resultados anteriores, se compararon los hallazgos frente a la t(15;17) tomando la categorización de riesgo del CECOG-

SWOG-MDACC para los cariotipos alterados en términos de SG hasta último seguimiento (Figura 1b), censurando hasta la fecha del TCPH (Figura 1c) y excluyendo los pacientes que recibieron un TCPH (Figura 1d). En la tabla 2 y la figura 2A se detallan los cocientes de riesgo (HR) de acuerdo al modelo aplicado en comparación a la t(15;17). Estos cocientes se modifican según la fecha de último seguimiento considerada o al excluir los pacientes que recibieron un TCPH. En este último escenario se observan pequeñas variaciones, aunque significativas (HR 1,3; IC95% 1,2-1,4) en los cocientes de

riesgo si se utiliza el ELN2010 para la definición del riesgo adverso. También se evaluaron los mismos hallazgos excluyendo los pacientes con la t(15;17) y tomando como referencia a los cariotipos normales *NPM1-/FLT3-* (Tabla 3, figura 2B). En la figura 2B se puede observar el efecto protector de los reordenamientos *CBF* y de la *NPM1+/FLT3-* en cariotipos normales (HR<1); que la presencia de alteraciones citogenéticas intermedias poseen un riesgo adicional, pero sin diferencias significativas; y que la presencia de alteraciones citogenéticas adversas y del *FLT3+* se asocian con un riesgo mayor (HR>1).

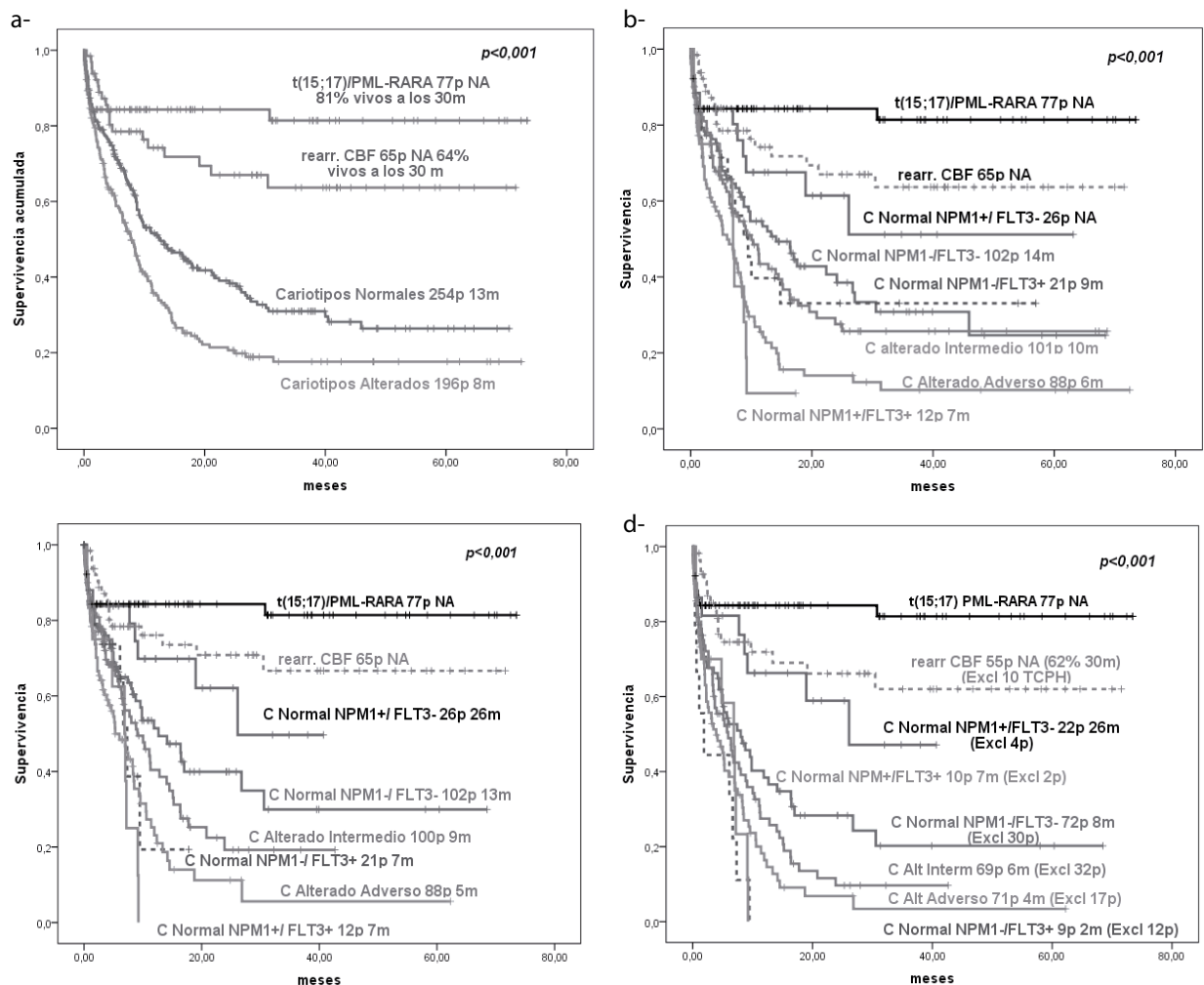


Figura 1. Curvas de supervivencia según Kaplan-Meier a) de acuerdo a los hallazgos citogenéticos (evaluados hasta el último seguimiento). b-d) Modelo final incluyendo los hallazgos moleculares y tomando la categorización de riesgo del CEOG-SWOG-MDACC para los cariotipos alterados⁽⁵⁾: b) evaluados hasta el último seguimiento, c) evaluados hasta el último seguimiento o hasta la fecha del TCPH, d) excluyendo pacientes que recibieron un TCPH.

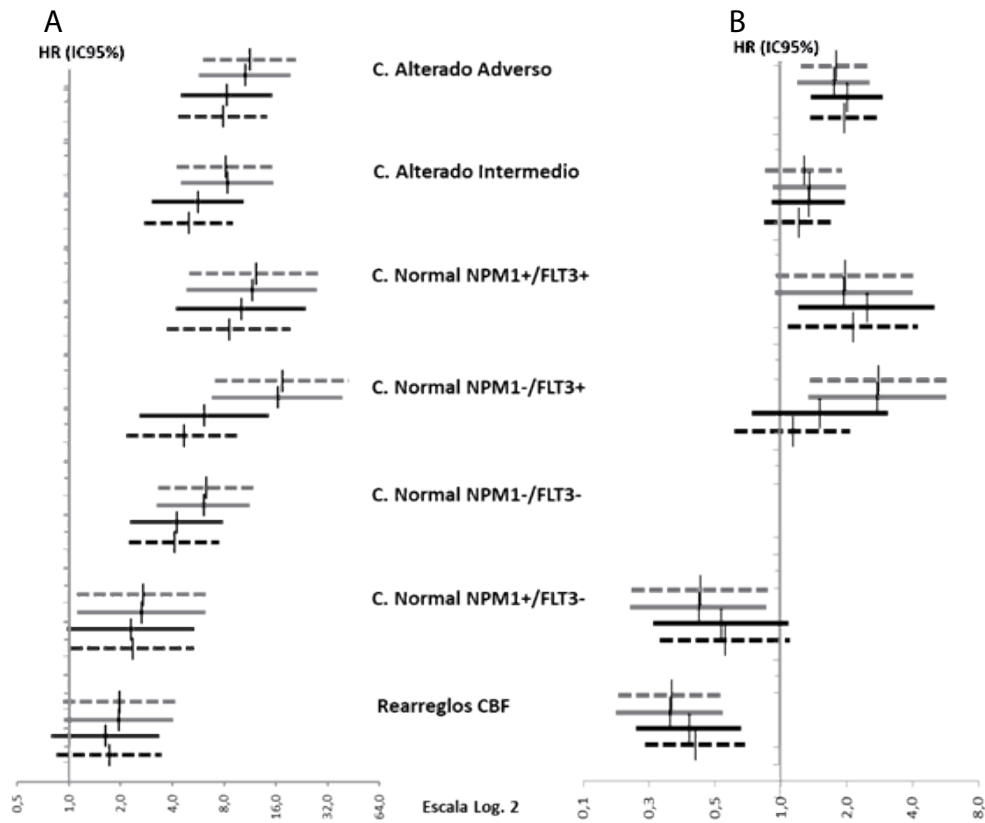


Figura 2. Cocientes de riesgo de acuerdo a los modelos evaluados en términos de supervivencia global. A) Tomando como grupo de referencia los pacientes con la *t*(15;17). B) Tomando como grupo de referencia los pacientes con cariotipo normal *FLT3*-/*NPM1*-. Modelo incluyendo la categorización de riesgo para cariotipos alterados según el CEOG-SWOG-MDACC⁽⁵⁾: negro interlineado, hasta último seguimiento; negro línea continua, hasta último seguimiento o a la fecha del TCPH; gris línea continua, excluyendo pacientes sometidos a un TCPH. Modelo incluyendo la categorización de riesgo para cariotipos alterados según la ELN2010⁽³⁾: gris interlineado, excluyendo pacientes sometidos a un TCPH. Regresión según Cox; Método de entrada.

Tabla 1. Supervivencia global y respuesta a tratamiento en pacientes con cariotipo alterado subdivididos conforme a los sistemas de clasificación de riesgo

Cariotipo	Serie completa			TCPH			Tratamiento		Quimioterapia								Agentes hipometilantes												
	SG			SG			Tasa de RC	SG		SG#		SG¥		Tasa RC	SG		SG¥		Tasa										
	N	Mdn		N	Mdn			N	Mdn	N	Mdn	N	Mdn	N	Mdn	N	Mdn	N	Mdn	RC	MR								
	(%)																												
	196	7,8m		50	31,4m		91p, 47%		126	8,8		127	8,9		79	5,9		82p, 65%		41	9,1		37	8,2		9p, 22%		21p, 51%	
		m	p¶		m	p¶	%	p*		m	p¶		m	p¶		m	p¶	%	p*		m		m		m		%		%
CALGB																					p=n.s.		p=n.s.		p=n.s.*		p=n.s.*		
Interm	58 (31)	11,2	n.s.	18	NA	n.s.	52	n.s.	41	14	n.s.	41	14,1	n.s.	23	7,7	n.s.	71	n.s.	9	9,1		9,1		11		44		
Adverso	131 (69)	7		31	19,6		44		84	8		83	8,3		56	5,2		61		31	9,1		28	7		23		55	
AMLCG																													
Interm	73 (38)	9,1	n.s.	19	NA	n.s.	47	n.s.	51	12,8	n.s.	50	10,3	n.s.	33	6,2	n.s.	63	n.s.	13	11,1		12	11,1		15		39	
Alto	119 (62)	7,5		31	14,7		48		77	8,5		77	8,5		48	5,2		66		27	7		25	6		22		59	
CECOG-SWOG-MDA																													
Interm	101 (53)	10	0,004	32	NA	0,033	54	n.s.	70	14	0,009	69	12,8	0,023	41	7,7	n.s.	73	0,023	19	11,2		16	9,1		16		47	
Adverso	88 (47)	6,1		17	14,5		39	0,057	54	7,5		54	7,5		38	4,6	0,067	53		22	7		21	7		27		54	
MRC																													
Interm	80 (44)	9,1	0,016	23	NA	n.s.	53	n.s.	56	10,3	n.s.	55	10	n.s.	34	7,1	n.s.	70	n.s.	16	11,1		15	11,1		15		38	
Adverso	110 (56)	6,4		27	14,5		43		70	8,4		70	8,1		45	5		60		24	7		22	7		22		63	
ELN 2010																													
Int-II	79 (42)	11,1	0,007	24	NA	n.s.	51	n.s.	53	16,4	0,005	52	14,5	0,018	30	8,9	0,035	72	n.s.	16	11,1		15	11,1		13		44	
Adverso	111 (58)	7		26	14,5		44		73	8		73	8		49	5		59		24	8,2		22	7		25		58	
IPSS																													
Bajo-Inter	94 (50)	10,3	0,006	29	NA	0,041	53	n.s.	66	14	0,023	65	10,3	n.s.	40	7,7	0,046	71	n.s.	17	11,2		14	9,1		18		47	
Adverso	96 (50)	6,4		21	14,5		41		59	7,5		59	8,3		39	4,6		56		24	7		23	7		25		54	
ELN 2017																													
Interm	74 (39)	10,3	0,011	22	NA	n.s.	50	n.s.	49	16,4	0,011	48	14,1	0,029	28	6,6	n.s.	71	n.s.	16	11,1		15	11,1		13		44	
Adverso	116 (61)	7,1		28	14,5		45		77	8,3		77	8		51	5,2		60		24	8,2		22	7		25		58	
Cariotipos relacionado a SMD																													
No	86 (45)	10,3	0,011	27	31,4	n.s.	55	n.s.	64	14	0,036	63	12,8	n.s.	38	7,1	n.s.	70	n.s.	13	11,1		12	9,1		15		54	
Sí	104 (55)	6,3		23	14,5		40		62	7,8		62	8,3		41	5,2		58		27	8,2		25	7		22		52	

Interm: intermedio; TCPH: trasplante de células progenitoras hematopoyéticas; SG: supervivencia global; Mdn: mediana; RC: remisiones completas; MR: mejor respuesta; N: número de pacientes; n.s.: no significativo. ¶ Kaplan-Meier/Log Rank; * Test exacto de Fisher; # Hasta último seguimiento o fecha de TCPH; ¥ excluyendo TCPH.

Tabla 2. Modelo final para supervivencia global evaluando los hallazgos citogenéticos y moleculares disponibles en comparación a los pacientes con t(15;17)

Hallazgos	SG		SG (Cens. TCPH)		SG (excl. TCPH)		SG* (excl. TCPH)	
	HR	<i>p</i>	HR	<i>p</i>	HR	<i>p</i>	HR	<i>p</i>
t(15;17)/PML- <i>RARA</i> (Ref)								
Rearr. <i>CBF</i>	1,7	0,136	1,6	0,184	1,9	0,081	1,9	0,081
C. Normal <i>NPM1+/-FLT3-</i>	2,3	0,044	2,3	0,057	2,6	0,029	2,6	0,029
C. Normal <i>NPM1-/FLT3-</i>	4,1	<0,001	4,2	<0,001	5,8	<0,001	5,8	<0,001
C. Normal <i>NPM1-/FLT3+</i>	4,6	<0,001	6,1	<0,001	15,5	<0,001	15,6	<0,001
C. Normal <i>NPM1+/-FLT3+</i>	8,5	<0,001	9,9	<0,001	11	<0,001	11,1	<0,001
C. Alterado intermedio	5	<0,001	5,6	<0,001	8	<0,001	7,5*	<0,001
C. Alterado adverso	7,8	<0,001	8,2	<0,001	10,1	<0,001	10,2*	<0,001

Cens: censurando; excl: excluyendo; HR: *Hazard Ratio*; regresión según Cox, método de entrada. SG: supervivencia global; TCPH: trasplante de células progenitoras hematopoyéticas.* Modelo tomando en consideración la clasificación de la ELN 2010 para los cariotipos alterados.

Tabla 3. Modelo final para supervivencia global evaluando los hallazgos citogenéticos y moleculares disponibles en comparación con los pacientes con cariotipo normal *NPM1-/FLT3-*

Hallazgos	SG		SG (Cens. TCPH)		SG (excl. TCPH)		SG* (excl. TCPH)	
	HR	<i>p</i>	HR	<i>p</i>	HR	<i>p</i>	HR	<i>p</i>
Rearr. <i>CBF</i>	0,42	0,001	0,38	0,001	0,32	<0,001	0,32	<0,001
C. Normal <i>NPM1+/-FLT3-</i>	0,57	0,098	0,53	0,081	0,43	0,022	0,43	0,021
C. Normal <i>NPM1-/FLT3-</i> (ref)								
C. Normal <i>NPM1-/FLT3+</i>	1,14	0,669	1,50	0,264	2,80	0,005	2,81	0,005
C. Normal <i>NPM1+/-FLT3+</i>	2,14	0,028	2,47	0,014	1,97	0,064	1,98	0,062
C. Alterado intermedio	1,22	0,28	1,33	0,141	1,38	0,101	1,29	0,227
C. Alterado adverso	1,95	<0,001	2,00	<0,001	1,77	0,003	1,80	0,002

Cens: censurando; excl: excluyendo; HR: *Hazard Ratio*; regresión según Cox, método de entrada. SG: supervivencia global; TCPH: trasplante de células progenitoras hematopoyéticas.* Modelo tomando en consideración la clasificación de la ELN 2010 para los cariotipos alterados.

Anexo: Distribución de los cariotipos en relación a los sistemas de riesgo aplicados

Alteración Citogenética	Sistemas de riesgo aplicados								
	CALGB (SG) 2002	AMLCG 2006	MRC 2010	CECOG-SWOG-MDACC 2010	ELN 2010	IPSS 1997 (2015)	Keating y col., 2003 (2015)	ELN 2017	OMS 2017
idic(Xq)									
-Y									
Alt 3q21q26.2									
alter. (3q) otras [1;3 o 3;21]	Rayado diagonal	Rayado diagonal							
t(3;5)(q21 25;q31~35)			Rayado diagonal						
add(5q)									
del(5q)									
-5									
t(5q32)			Rayado diagonal						
7q11.2			Rayado diagonal						
10q21			Rayado diagonal						
12p13.2									
17p13.2					Rayado diagonal				
t(6;9)(q23;q34)									
-7									
add(7q)									Rayado diagonal
del(7q)									
+8									
del(9q)									
t(9;22)(q34;q11)									
+11									
del(11q)									
t(11q23v) [6q27; 10p11~13]									
t(2;11)(p21;q23.3)									
t(11;16)(q23.3;p13.3)									
t(9;11)(p21~22;q23)									
t(11;19)(q23;p13)									
Alt (12p)									
+13									
-13/del(13q)									
-17									
Alt (17p)/17p-i(17q)			Rayado diagonal		Rayado diagonal			Rayado diagonal	
del(20q)									
+21									
Cariotipos Monosomales NC									Rayado diagonal
Cariotipos Complejos 3 alt									
Cariotipos Complejos ≥4 alt									

Blanco: Riesgo Favorable; Gris: intermedio; Negro: Adverso; Rayado diagonal: reordenamientos no especificados cuyos puntos de ruptura involucran alteraciones de riesgo adverso.

Discusión

La categorización de riesgo propuesta por la ELN en 2017⁽¹⁾ fue presentada como una actualización del esquema original propuesto en 2010⁽³⁾. La opinión de expertos y la evidencia recolectada de la literatura y de diferentes trabajos presentados en congresos de relevancia entre los años 2013 y 2016 muestran el avance en el conocimiento de la biología de la enfermedad a través de la individualización de genes de relevancia clínico-pronóstica.

Una de las observaciones que resultan del presente trabajo confirma que ciertas determinaciones requeridas para la aplicación tanto de la ELN2017 como de su predecesora se encuentran limitadas en nuestro medio. El acceso a la identificación de hallazgos como el cálculo del ratio de las DIT-*FLT3*⁽¹³⁾, las mutaciones en *CEPBA*, *TP53*, *ASXL1* requiere que los laboratorios especializados tengan equipos de electroforesis capilar y/o de secuenciación, ya sea de primera generación o tecnologías más avanzadas que permiten el estudio de múltiples genes. Si bien la determinación cualitativa de la mayoría de las mutaciones en *FLT3* y en *NPM1* demanda un equipamiento de biología molecular estándar⁽¹⁴⁻¹⁷⁾, ambos resultados estaban disponibles para menos de dos tercios de los pacientes con cariotipo normal. Los resultados obtenidos confirman la importancia de estas determinaciones con un mejor pronóstico de aquéllos con *NPM1*+/*FLT3*⁽¹⁸⁾ y un pronóstico muy adverso para aquellos portadores *FLT3*+, sobre todo al excluir los pacientes sometidos a TCPH. Sin embargo, esta corta sobrevida fue similar entre aquellos *FLT3*+ acompañados o no por *NPM1*+, lo cual coincide con diversos estudios publicados y revisados oportunamente⁽¹⁸⁾. Los hallazgos sugerirían que no podríamos subdividir nuestros escasos pacientes *FLT3*+/*NPM1*+ de acuerdo al *ratio* a fin de individualizar un subgrupo de mejor expectativa: la alta tasa de mortalidad (10/12) durante el período evaluado y un único paciente con una supervivencia mayor a 10 meses, el cual fue sometido a TCPH. Se espera que con la incorporación de inhibidores de *FLT3* desde 2018 cambie la historia de estos pacientes frente al uso de QMT convencional⁽¹⁹⁾.

El establecimiento del cariotipo se sostiene como mandatorio al momento del diagnóstico, ya que permite detectar alteraciones recurrentes o asociadas a SMD, de acuerdo a la clasificación de la OMS 2016⁽¹²⁾ y, además, clasificar estos hallazgos según

su riesgo⁽¹⁻¹¹⁾. El resultado citogenético fue evaluable en el 82% de los pacientes y, al complementar los hallazgos por biología molecular (RT-PCR) o FISH, se logró elevar el porcentaje a 86%. De acuerdo a lo esperado, se confirmó el buen pronóstico de los pacientes con la t(15;17) y los rearrreglos *CBF*. Además, el sistema definido por el CECOG-SWOG-MDACC, el cual considera de pronóstico adverso a los cariotipos complejos y las pérdidas totales del 5 o 7⁽⁵⁾, es el que mejor reflejó los parámetros evaluados. Estos hallazgos influyeron en la SG, censurando o no hasta el TCPH, SG en pacientes trasplantados, tasas de RC a QMT primera línea y a cualquier tratamiento. En la serie original de 6283 pacientes tratados con esquemas basados en citarabina, estos cariotipos se asociaron una menor chance de alcanzar una remisión completa e, independientemente, a menor supervivencia global⁽⁵⁾. Sin embargo, la aplicación de la ELN2010⁽³⁾ permitió identificar 23 pacientes adicionales con reordenamientos 3q21-26, 5q-, t(6;9), t11q23v (exceptuando la t(9;11)) y 17p- asociados con una supervivencia más corta frente al tratamiento con QMT en primera línea, aunque las tasas de RC no mostraron diferencias significativas. Con respecto a los cambios en relación al cariotipo propuestos por la ELN2017⁽¹⁾, se incorporaron 4 pacientes con t(9;22) y 1 con cariotipo monosomal no complejo, disminuyendo el impacto del riesgo adverso frente a los parámetros evaluados. La utilización de terapia diana y la tasa de trasplante en el primer grupo, según la recomendación, puede haber influenciado los resultados obtenidos^(1,12). Los cariotipos monosomales no complejos (< 3 alteraciones), que, a su vez excluyan los cromosomas 5, 7 y 17, conformarían un grupo muy poco frecuente. La frecuencia de estos cariotipos se incrementa con su complejidad⁽²¹⁻²²⁾ y si se excluyen las alteraciones en los cromosomas 5 y 17 se pierde su influencia negativa frente al TACPH⁽²³⁾.

Estos resultados poseen las limitaciones asociadas a trabajos retrospectivos y, además, están restringidos a centros participantes de las subcomisiones de la SAH pertenecientes a la Región Metropolitana y La Plata. Sin embargo, se complementan con otras seis comunicaciones presentadas en el Congreso de la SAH, Mendoza 2019⁽²³⁻²⁸⁾, basadas en la misma recopilación de datos, y muestran el esfuerzo conjunto por evidenciar la realidad de nuestro medio. Particularmente, en el presente trabajo se comprobó el impacto de las alteraciones en relación a aquéllos con

cariotipo normal en términos de SG, con un descenso del riesgo en aquellos *CBF+* o *NPM1+/FLT3-* y un incremento en aquellos con cariotipos adversos y con *FLT3+*, sobre todo en aquellos *NPM1-/FLT3+* que no recibieron un TCPH.

Agradecimientos:

Se agradece a las instituciones participantes miembros de las Subcomisiones de SMD y LA de la SAH: Hospital Italiano de Buenos Aires, Hospital Italiano de La Plata, Hospital General de Agudos “Carlos Durand”, FUNDALEU, Instituto “Alexander Fle-

ming”, Hospital Interzonal General de Agudos “San Martín”, Sanatorio “Sagrado Corazón”, Hospital Nacional “A Posadas”, Hospital de Clínicas “José de San Martín”, Hospital “Cesar Milstein”, Hospital de Alta Complejidad “El Cruce”.

Si bien el trabajo no posee financiamiento específico, CB cuenta con subsidios de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Técnica (PICT-0480 y PID-044) y del Consejo Nacional de Ciencia y Técnica (PIP 056).

Conflictos de interés: El Dr Santiago Cranco declara haber recibido honorarios por parte de Pfizer y Novartis por concepto de conferencias y actividades educativas en las que ha participado. La Dra. Alicia Navickas declara haber recibido honorarios de parte de Abbie por concepto de actividades educativas en las que ha participado. El resto de los autores declara no poseer conflictos de interés.

References

1. Döhner H, Estey E, Grimwade D y col. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2017; 129:424-47.
2. Harada Y, Nagata Y, Kihara R y col. Prognostic analysis according to the 2017 ELN risk stratification by genetics in adult acute myeloid leukemia patients treated in the Japan Adult Leukemia Study Group (JALSG) AML201 study. *Leuk Res*. 2018;66:20-7.
3. Döhner H, Estey EH, Amadori S y col. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 2010;115:453-74.
4. Byrd JC, Mrózek K, Dodge RK y col. Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood*. 2002;100:4325-36.
5. Walter RB, Kantarjian HM, Huang X y col. Effect of complete remission and responses less than complete remission on survival in acute myeloid leukemia: a combined Eastern Cooperative Oncology Group, Southwest Oncology Group, and M. D. Anderson Cancer Center Study. *J Clin Oncol*. 2010;28:1766-71.
6. Stelljes M, Beelen DW, Braess J y col. Allogeneic transplantation as post-remission therapy for cytogenetically high-risk acute myeloid leukemia: landmark analysis from a single prospective multicenter trial. *Haematologica*. 2011;96:972-9.
7. Büchner T, Berdel WE, Schoch C y col. Double induction containing either two courses or one course of high-dose cytarabine plus mitoxantrone and postremission therapy by either autologous stem-cell transplantation or by prolonged maintenance for acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2006; 24:2480-9.
8. Grimwade D, Hills RK, Moorman AV y col. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials. *Blood*. 2010; 116:354-65.
9. Oosterveld M, Suciú S, Muus P y col. Specific scoring systems to predict survival of patients with high-risk myelodysplastic syndrome (MDS) and de novo acute myeloid leukemia (AML) after intensive antileukemic treatment based on results of the EORTC-GIMEMA AML-10 and intergroup CRIANT studies. *Ann Hematol*. 2015; 94:23-34.
10. Greenberg P, Cox C, LeBeau M y col. International International Scoring System for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 1997; 89: 2079-88.
11. Keating S, Suciú S, de Witte T y col. The stem cell mobilizing capacity of patients with acute myeloid leukemia in complete remission correlates with relapse risk: results of the EORTC-GIMEMA AML-10 trial. *Leukemia*. 2003; 17: 60-7
12. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL y col, editors. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, 2017 Revised 4th Edition, Lyon, IARC press, 2017.

13. Murphy KM, Levis M, Hafez MJ y col. Detection of FLT3 internal tandem duplication and D835 mutations by a multiplex polymerase chain reaction and capillary electrophoresis assay. *J Mol Diagn.* 2003; 5: 96-102.
14. Kiyoi H, Naoe T, Nakano Y y col. Prognostic implication of FLT3 and N-RAS gene mutations in acute myeloid leukemia. *Blood.* 1999; 93: 3074-80.
15. Yamamoto Y, Kiyoi H, Nakano Y y col. Activating mutation of D835 within the activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies. *Blood.* 2001; 97:2434-9.
16. Ottone T, Ammatuna E, Lavorgna S, Noguera NI, Buccisano F, Venditti A, Gianni L, Postorino M, Federici G, Amadori S, Lo Coco F. An allele-specific RT-PCR assay to detect type A mutation of the nucleophosmin-1 gene in acute myeloid leukemia. *J Mol Diagn.* 2008;10:212-216.
17. Calvo KL, Ojeda MJ, Ammatuna E y col. Detection of the nucleophosmin gene mutations in acute myelogenous leukemia through RT-PCR and polyacrylamide gel electrophoresis. *Eur J Haematol.* 2008; 82: 69-72.
18. Mrozek K, Marcucci G, Paschka P y col. Clinical relevance of mutations and gene-expression changes in adult acute myeloid leukemia with normal cytogenetics: are we ready for a prognostically prioritized molecular classification? *Blood.* 2007; 109: 431-48.
19. Stone RM, Mandrekar SJ, Sanford BL y col. Midostaurin plus Chemotherapy for Acute Myeloid Leukemia with a FLT3 Mutation. *N Engl J Med.* 2017; 377: 454-64.
20. Haferlach C, Alpermann T, Schnittger S y col. Prognostic value of monosomal karyotype in comparison to complex aberrant karyotype in acute myeloid leukemia: a study on 824 cases with aberrant karyotype. *Blood.* 2012; 119: 2122-5.
21. Breems DA, van Putten WL, de Greef GE y col. Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia: a better indicator of poor prognosis than a complex karyotype. *J Clin Oncol.* 2008; 26:4791-7.
22. Middeke JM, Beelen D, Stadler M y col. Outcome of high-risk acute myeloid leukemia after allogeneic hematopoietic cell transplantation: negative impact of *abl(17p)* and *-5/5q-*. *Blood.* 2012; 120: 2521-8.
23. Gonzalez J, Villaverde N, Kantor G y col. Diagnóstico y tratamiento de las Leucemias Mieloides Agudas (LMA) según el tipo de sistema de salud. *Hematología.* 2019; 23 (S2): 69.
24. Gimenez Conca A, Basquiera A, Perusini A y col. Enfermedad residual medible post induccion por citometria de flujo en Leucemia Mieloides Aguda no promielocítica. Estudio colaborativo. *Hematología.* 2019; 23 (S2): 34.
25. Mela Osorio M, Belli C, Ferrari L y col. Impacto de la respuesta a agentes hipometilantes o quimioterapia intensiva en la sobrevida de pacientes con LMA mayores de 65 años. *Hematología.* 2019; 23 (S2): 34.
26. Belli CB, Dick H, Giménez Conca AD. Influencia de la progresión leucémica en el pronóstico de los pacientes con síndromes mielodisplásicos y experiencia nacional en leucemias mieloides agudas secundarias. *Hematología.* 2019; 23 (N Extraordinario): 161-70.
27. Perusini A, Basquiera A, Gimenez Conca A y col. Mortalidad temprana en Leucemia Mieloides Aguda: Experiencia Multicéntrica. *Hematología.* 2019; 23 (S2): 49.
28. Gimenez Conca A, Perusini A, Basquiera A y col. Análisis de supervivencia global en Leucemias Agudas no promielocíticas. Datos de una base colaborativa. *Hematología.* 2019; 23 (S2): 49.



Atribución – No Comercial – Compartir Igual (by-nc-sa): No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original. Esta licencia no es una licencia libre.

Manifestaciones clínicas, factores pronósticos y respuesta terapéutica del síndrome hemofagocítico: experiencia del HCJSM

Clinical manifestations, prognostic factors and therapeutic response of hemophagocytic syndrome: Hospital de Clínicas experience

Lavalle J; Minissale C; Carnelutto N; Rojas F; Gómez M; Brodsky A

Hospital de Clínicas "José de San Martín"

justinalavalle@gmail.com

Fecha recepción: 07/03/2020

Fecha aprobación: 27/03/2020

TRABAJO INTEGRADOR FINAL DESTACADO EN EL MARCO DEL CURSO DE LA CARRERA DE MÉDICO ESPECIALISTA EN HEMATOLOGÍA 2017-2019.



ARTICULO ORIGINAL

HEMATOLOGÍA
Volumen 24 N° 1: 21-31
Enero - Abril 2020

Palabras claves: síndrome hemofagocítico, pronóstico, tratamiento, linfocitosis.

Keywords: hemophagocytic, prognostic, treatment, lymphocytosis.

Resumen

Introducción

El síndrome hemofagocítico (SHF) es una condición clínica poco frecuente pero de elevada mortalidad, resultado de una respuesta inmune hiperinflamatoria e inefectiva, con activación sostenida del sistema mononuclear fagocítico.

Objetivos

Analizar retrospectivamente los casos de SHF asistidos durante los últimos 8 años en el Hospital de Clínicas, para evaluar factores pronósticos y terapéuticos.

Material y métodos

Se incluyeron 16 pacientes con SHF primario (n=1) o secundario (n=15). Según la causa se dividió a los pacientes con SHF secundario en 4 categorías: linfoma, infección, combinada o indeterminada. Todos recibieron tratamiento de la causa subyacente, así como dexametasona sola o combinada con etopósido.

Resultados

Las manifestaciones clínicas de nuestros pacientes con SHF secundario y primario no difirieron de lo descrito en la literatura. El 93,75% (n=15) presentó hemofagocitosis en aspirado o biopsia de médula ósea. La enfermedad subyacente fue un linfoma (46,7%; n=7), una infección (33,3%; n=5) o etiología combinada (13,3%; n=2). La mediana de supervivencia (SV) de los pacientes fue de 79 días (IC95%: 29-no alcanzada): 31 días en el grupo con linfoma, 160 días para aquellos de causa combinada y no alcanzada para aquellos de etiología infecciosa (p=0,8). Ninguna de las variables presentes al momento del diagnóstico fue predictora de SV, mientras que el descenso de la hemoglobina (p=0,019), el aumento de la LDH (p=0,029) y el descenso de la ferritina (p=0,035) al día 15 mostraron correlación significativa con la mortalidad. Hubo un beneficio no significativo en la SV en aquellos que recibieron corticoides sin etopósido. El tener respuesta completa a la semana cuatro (RC4) fue un predictor sig-

nificativo de SV ($p=0,00016$). Hubo una tendencia no significativa a una reducción de la mortalidad en el grupo que inició tratamiento tempranamente ($p=0,32$).

Conclusiones

La falta de RC4 y los valores de ferritina, LDH y hemoglobina al día 15 se correlacionaron de manera significativa con el riesgo de muerte. Nuevos estudios con un número mayor de pacientes podrán confirmar la relevancia clínica de estos hallazgos.

Abstract

Introduction

Hemophagocytic syndrome (HS) is a rare but potentially fatal condition, which results from an excessive and ineffective immune response with continuous activation of mononuclear phagocyte system.

Objective

To make a retrospective assessment of patients with HS reported in the last 8 years in the Hospital de Clínicas to assess prognostic and therapeutic factors.

Material and methods

Sixteen patients with primary ($n=1$) or secondary ($n=15$) HS were included. Patients were classified in four categories according to the etiology: lymphoma, infection, combined or unknown. Every patient received specific treatment of the underlying cause, as well as dexamethasone alone or combined with etoposide.

Results

Clinical signs and symptoms of our patients did not differ from the literature. Hemophagocytosis in bone marrow aspirate or biopsy was present in 15 cases (93.75%). The underlying diseases were lymphoma (46.7%; $n=7$), infection (33.3%; $n=5$) or combined (13.3%; $n=2$). The median survival of patients was of 79 days (CI95%: 29-not reached): 31 days for those with lymphoma, 160 days for those with combined etiology and not reached for those with infectious underlying cause ($p=0.8$). None of the variables assessed at the moment of diagnosis was predictive of survival, whereas hemoglobin decrease ($p=0.019$), LDH elevation ($p=0.029$) and ferritin decrease ($p=0.035$) at 15th day correlated significantly with mortality. There was a non statistically signifi-

cant survival benefit in those who received corticosteroids without etoposide. To achieve a complete response at week four (RC4) was significantly associated with improved survival ($p=0.00016$). There was a trend towards reduction of mortality in those who received prompt treatment, without reaching statistical significance ($p=0.32$).

Conclusions

The achievement of RC4 and the values of ferritin, LDH and hemoglobin at day 15th correlated significantly with the risk of death. New studies with more patients are needed to confirm the relevance of these findings.

Introducción

El síndrome hemofagocítico (SHF) es una condición clínica poco frecuente pero de mortalidad elevada, consecuencia de una respuesta inmune inefectiva e hiperinflamatoria, con activación sostenida del sistema mononuclear fagocítico^(1,2). Tiene una incidencia anual estimada de 1:800.000 individuos y aparece a una edad media de 50 años⁽³⁾. La mortalidad oscila según las series entre el 40 y 70%⁽⁴⁾. Se clasifica en: 1) primario: cuando es debido a mutaciones en genes que regulan la actividad efectora de las células NK y linfocitos T, lo que lleva a una franca disminución del poder de citotoxicidad de las mismas^(6,7), y 2) secundario: cuando no se conoce un defecto genético y aparece ante determinadas situaciones “gatillo”, que generan una disrupción en la homeostasis del sistema inmune. El diagnóstico se basa en un conjunto de características clínicas y de laboratorio establecidas por la Sociedad de Histiocitosis (SH)^(1,2). Dada la elevada mortalidad del cuadro, surge la necesidad de identificar variables potenciales que puedan condicionar la evolución, a fin de optimizar el tratamiento. Es escasa la información disponible acerca de factores pronósticos en adultos, por lo que se realizó un análisis retrospectivo de los casos de SHF primario y secundario durante los últimos ocho años en nuestra institución, a fin de realizar un análisis descriptivo e identificar potenciales variables pronósticas y el impacto de la terapéutica instaurada.

Material y métodos

Se incluyeron 16 pacientes con diagnóstico de SHF primario ($n=1$) y secundario ($n=15$) en el período

mencionado, que reunían los criterios propuestos por la SH⁽¹⁾. Se hizo un análisis descriptivo de las características presentes en la población al diagnóstico. Según la causa se dividió a los pacientes en 4 categorías: linfoma (SHF-L), infección, indeterminada o combinada. Todos recibieron tratamiento de la causa subyacente, y dexametasona como monoterapia o combinada con etopósido. Se evaluó el rol de una serie de variables registradas al diagnóstico y al día 15 como posibles factores pronósticos, mediante método de regresión de Cox por análisis univariado y multivariado. Los datos de supervivencia (SV) se representaron con curvas de Kaplan-Meier. Se tomó como significativo un valor de $p < 0,05$.

Resultados

Las características generales de la población en estudio se presentan en la tabla 1, y las analizadas para los pacientes con SHF secundario en la tabla 2. Las manifestaciones clínicas en aquéllos con SHF secundario ($n=15$) y primario ($n=1$) no difirieron de lo descrito en la literatura (Tabla 1). El 93,75% ($n=15$) presentó hemofagocitosis en médula ósea

(Figura 1). La enfermedad subyacente en la mayoría de ellos fue un linfoma (46,7%; $n=7$), seguido por infecciones (33,3%; $n=5$). El 13,3% ($n=2$) presentó una etiología combinada (Tabla 3). La mediana de SV de los pacientes fue de 79 días (intervalo de confianza del 95%: 29-no alcanzado): 31 días en el grupo de SHF-L, 160 días para aquéllos de causa combinada y no alcanzada para aquéllos de etiología infecciosa ($p=0,8$). Ninguna de las variables presentes al momento del diagnóstico resultó estadísticamente significativa como predictora de SV (Tabla 4), mientras que el descenso de la Hb ($p=0,019$), el aumento de LDH ($p=0,029$) y el descenso de la ferritina ($p=0,035$) al día 15 mostraron una correlación significativa con la mortalidad (Tabla 5). Hubo un beneficio no significativo en la SV en aquéllos que recibieron corticoides sin etopósido ($p=0,77$) (Figura 3). El tener respuesta completa a la semana cuatro (RC4) fue un predictor significativo de SV ($p=0,00016$) (Figura 4). Hubo una tendencia no significativa hacia una reducción de la mortalidad en el grupo que inició tratamiento tempranamente, tomando como punto de corte 6 días, que fue la mediana

Tabla 1. Características generales sociodemográficas y clinicopatológicas basales de la población

VARIABLES	VALORES
Masculino/Femenino n (%)	9 (56,25) / 7 (43,75)
Edad, m (sd)	57 (15,34)
Inmunosuprimidos, n (%)	3 (18,75)
Características clínicas y de laboratorio, n (%)	
Fiebre	16 (100)
Bicitopenia	15 (93,75)
Hepatoesplenomegalia	15 (87,5)
Hemofagocitosis en MO	15 (93,75)
Ferritina > 500 ng/ml	15 (93,75)
Fibrinógeno < 150 mg/dl	9 (56,25)
Triglicéridos > 265 mg/dl	9 (56,25)
Proteína C reactiva > 0,5 mg/dl	16 (100)
LDH > 480 UI/L	15 (93,75)
Albúmina < 3,5 g/dl	14 (87,5)
Elevación enzimas hepáticas	12 (75)
Alteración del coagulograma	8 (50)
ESD > 50 mm/1 ^a hora	6 (37,5)
Insuficiencia renal	3 (18,75)
Síntomas neurológicos	2 (12,5)

Causa, n (%)	
Primario	1 (6,25)
Secundario	15 (93,75)
*Linfoma	7 (46,7)
*Infección	5 (33,3)
*Combinado	2 (13,3)
*Desconocida	1 (6,7)

m: media, sd: desvío estándar

Tabla 2. Variables analizadas en los pacientes con SHF secundario (n=15)

VARIABLES	VALORES	n (perdidos)
Edad, m (17-19)	59,8 (15,34)	15(0)
Hemoglobina (g/dl), m (rango)	7,9 (6 a 13)	15(0)
Neutrófilos/mm ³ , m (rango)	2.194 (528 a 5.000)	15(0)
Plaquetas/mm ³ , m (rango)	52.600 (22.000 a 92.000)	15(0)
Albúmina (g/dl), m (rango)	2,8 (2 a 4,5)	15(0)
Ferritina (ng/ml), m (rango)	13.908 (460 a 103.737)	15(0)
Fibrinógeno (mg/dl), m (rango)	195 (50 a 700)	15(0)
Triglicéridos (mg/dl), m (rango)	337 (117 a 1.565)	15(0)
GOT (UI/L), m (rango)	306 (9 a 3.100)	15(0)
GPT (UI/L), m (rango)	278 (7 a 2.000)	15(0)
LDH (UI/L), m (rango)	2.171 (597 a 4.860)	15(0)
Alteración coagulograma, n (%)	8 (53,3)	15(0)
H índice, m (rango)	232,47 (169 a 319)	15(0)
Causa, n (%)		15(0)
*Combinado	2 (13,3)	
*Desconocida	1 (6,7)	
*Infección	5 (33,3)	
*Linfoma	7 (46,7)	
Tratamiento CTC + etopósido, n (%)	8 (53,3)	15(0)
RC a la semana 4, n (%)	7 (46,7)	15(0)
Hemoglobina al día 15 (g/dl), m (rango)	7,96 (6,5 a 12,7)	13(2)
LDH al día 15 (UI/L), m (rango)	1.710 (215 a 4.800)	13(2)
Ferritina al día 15 (ng/ml), m (rango)	2.825 (48 a 4.000)	11(4)
Plaquetas/mm ³ al día 15, m (rango)	64.333 (8.000 a 398.000)	13(2)
GOT al día 15 (UI/L), m (rango)	34,7 (5 a 96)	13(2)
GPT al día 15 (UI/L), m (rango)	27 (11 a 673)	13(2)

Abreviaturas. m: media; CTC: corticoides; RC: respuesta completa

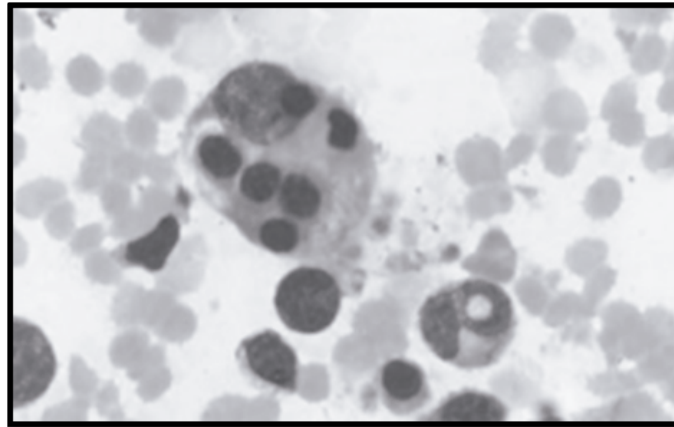


Figura 1. Hemofagocitosis en médula ósea.

Tabla 3. Causas específicas en los pacientes con SHF secundario, n (%)

Linfoma	7 (46,7)
*Linfoma de células T o NK	4 (57,14)
*Linfoma no Hodgkin B	2 (28,57)
*Linfoma de Hodgkin	1 (14,28)
Infección	5 (33,3)
*Citomegalovirus (CMV)	3 (60)
*Leishmaniasis	1 (20)
*Dengue	1 (20)
Combinado	2 (13,3)
*Linfoma no Hodgkin y CMV	1 (50)
*Linfoma de Hodgkin y VEB	1 (50)
Desconocida	1 (6,7)

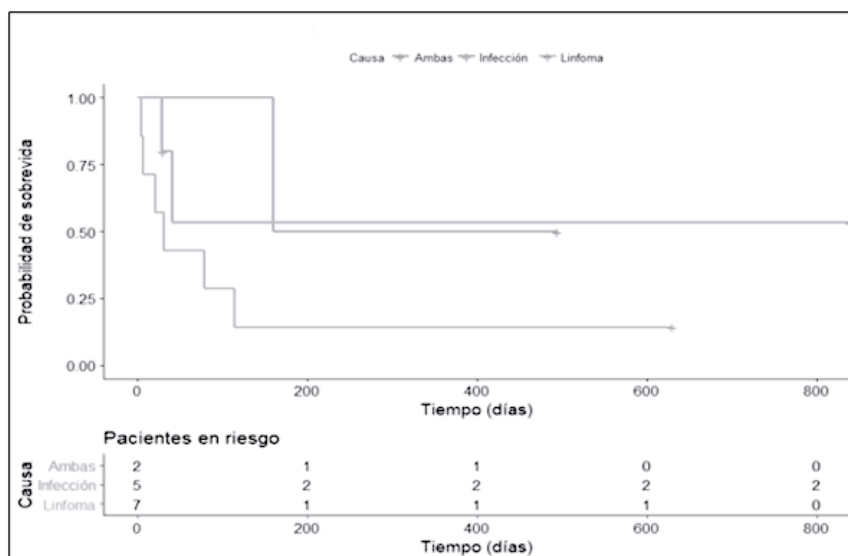


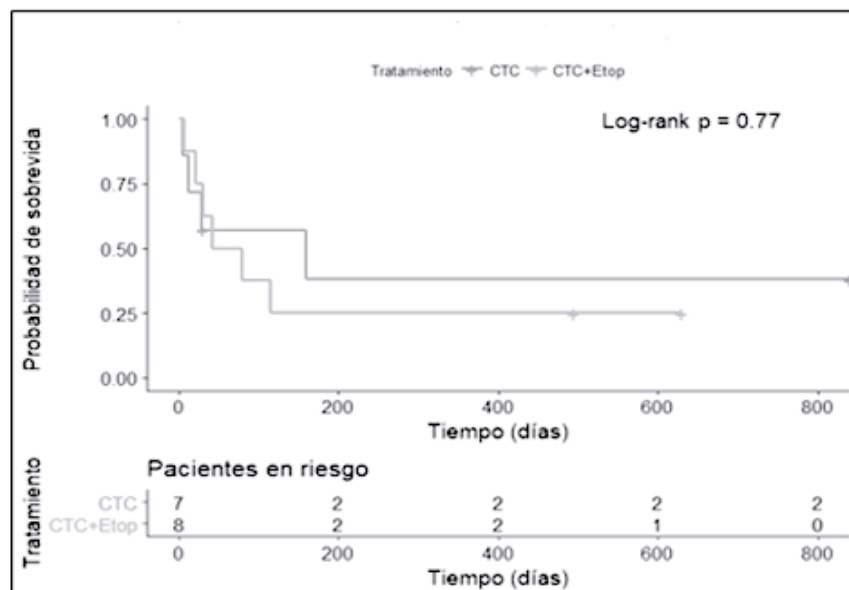
Figura 2. Curva de Kaplan-Meier: supervida en función de la causa

Tabla 4. Significancia estadística de cada variable al momento del diagnóstico. Análisis univariado

Variable	p-valor
Edad	0,62
Hemoglobina	0,828
LDH	0,735
Ferritina	0,317
Plaquetas	0,326
Albúmina	0.23
Neutrófilos	0.781
Fibrinógeno	0.491
Alteración coagulograma	0.69
Causa (linfoma, infección, ambas)	0.3
GOT	0.45
GPT	0.223
H índice	0.646

Tabla 5. Significancia estadística de cada variable medida al día 15. Análisis univariado

Variable	p-valor
Hemoglobina	0.019
LDH	0.029
Ferritina	0.035
Plaquetas	0.061
GOT	0.0537
GPT	0.685

**Figura 3.** Supervivencia de acuerdo al tratamiento.

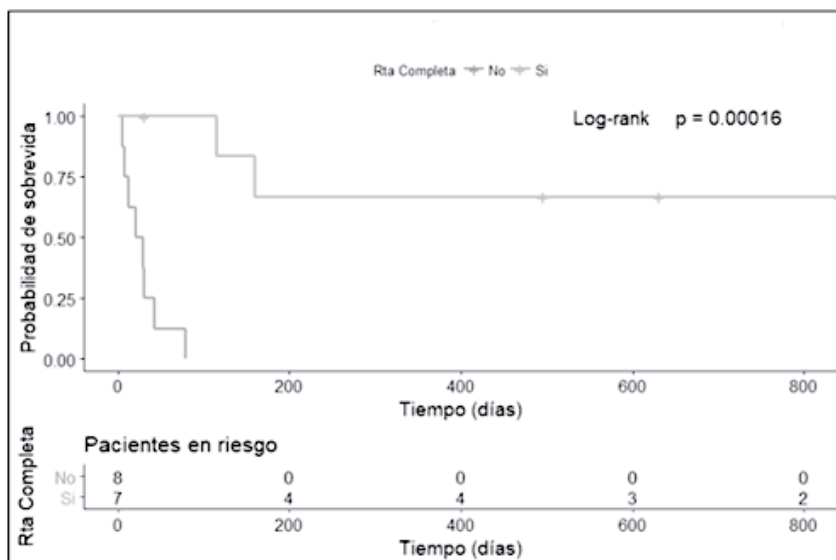


Figura 4. Sobrevida de acuerdo a la RC a la semana 4.

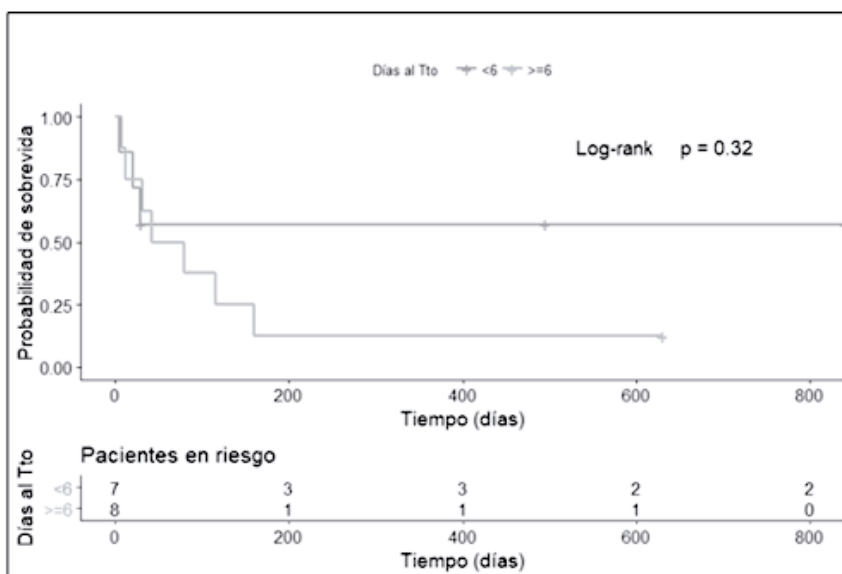


Figura 5. Sobrevida de acuerdo a la demora en el inicio del tratamiento.

de tiempo hasta el inicio del tratamiento en nuestros pacientes ($p=0,32$) (Figura 5).

Discusión y revisión bibliográfica

El SHF primario o familiar (SHF-F) se debe a alteraciones en genes que codifican proteínas involucradas en la actividad citotóxica de las células NK y T; entre ellos: *PFRI*, *UNC13D* y *STX11*⁽²⁾. En general se diagnostica en los primeros seis meses de vida. El SHF secundario puede desarrollarse a cualquier edad, apareciendo asociado a alguna entidad subyacente como neoplasias -fundamentalmente hematológicas-, infecciones o enfermedades reumatológicas-

cas^(2,3). Sin embargo, la evidencia actual indicaría que esto no es tan estricto y que hay cierto grado de superposición entre ambos⁽⁵⁾. Así, 7 a 18% de los pacientes con diagnóstico clásico de SHF secundario tendrían mutaciones monoalélicas o polimorfismos en genes implicados típicamente en la patogenia del SHF familiar⁽⁵⁾. En este trabajo, dada la falta de cobertura de salud de la mayoría de los pacientes, no se contó con los medios para la realización de dichos estudios mutacionales.

Se presenta como un cuadro clínico de carácter agudo o subagudo (1 a 4 semanas de evolución)⁽³⁾, cuyas

manifestaciones se deben a la liberación exagerada de citoquinas por los linfocitos activados y macrófagos^(1,2). Estas manifestaciones no son específicas y están presentes en varias patologías como sepsis, enfermedades autoinmunes o neoplasias; esto puede dar lugar a diagnósticos tardíos, con el consiguiente retraso en el inicio de la terapéutica. Nuestros pacientes presentaron esta variedad de alteraciones en una frecuencia similar a la descrita en otros estudios^(6,7). Cabe destacar que muchos autores plantean que la presencia de hemofagocitosis en médula ósea posee escasa sensibilidad y especificidad⁽²⁾, pues se ve en otras patologías -como infecciones- y se hace evidente en etapas tardías⁽⁸⁾. En contraste con esto, el 93,75% de los pacientes de nuestra casuística tenía signos de hemofagocitosis en aspirado y/o biopsia de médula, constituyendo así una herramienta de alta sensibilidad. Con respecto a la hiperferritinemia, sería de alta especificidad en la población pediátrica, pero en adultos obliga a descartar otras causas potenciales^(8,9). En nuestra población de estudio, el valor medio fue de 13.100 ng/ml, con un valor máximo de 103.737 ng/ml.

Otros parámetros no incluidos en los criterios diagnósticos establecidos estuvieron también presentes en un porcentaje importante de los pacientes: elevación de la proteína C reactiva (100%, n=16) con eritrosedimentación normal, aumento de LDH (93,5%, n=15), hipoalbuminemia (87,5%, n=14) y aumento de enzimas hepáticas (75%, n=12). La prevalencia de disfunción hepática reportada en otros estudios es similar, al punto que algunos consideran que debería ser parte de los criterios diagnósticos⁽⁸⁾. Por último, hasta un tercio de los pacientes presenta compromiso neurológico al momento del diagnóstico según la literatura^(2,10), mientras que sólo dos pacientes en este trabajo manifestaron signos y síntomas compatibles.

Uno de los primeros hallazgos en relación a variables pronósticas fue que la enfermedad subyacente condicionaría marcadamente el pronóstico de los pacientes^(7,11,12). Así, el SHF secundario a linfoma (SHF-L) es una entidad de peor pronóstico que las otras variantes^(13,14) y la etiología infecciosa es un factor pronóstico independiente en adultos con SHF, tal como se demostró en un trabajo recientemente publicado por la Mayo Clinic, donde la SV fue significativamente mayor en este grupo de pacientes⁽¹⁵⁾. El SHF-L afecta al 1% de los pacientes con neopla-

sias hematológicas e involucra principalmente linfomas de células T y NK⁽²⁾, aunque se han descrito varios casos asociados a linfomas no Hodgkin y linfoma de Hodgkin^(7,12). Li y col⁽⁶⁾ y Han⁽¹⁴⁾ describen una mediana de SV de 37 y 36 días respectivamente para este grupo de pacientes, versus 350 días para el grupo de causa infecciosa. Otros hablan de mortalidad mayor al 80% en el SHF-L por linfoma de células T o NK⁽¹⁵⁾. Esto podría deberse a que la activación y proliferación aberrante de células T y NK resultaría en mayor producción de sustancias inflamatorias, perpetuando la activación de macrófagos y el daño tisular. Coincidente con lo reportado en la bibliografía, la SV de nuestros pacientes con SHF-L fue menor a la del resto, con una mediana de 31 días, versus no alcanzada para los que presentaron SHF relacionado a proceso infeccioso. Estos valores no alcanzaron significación estadística debido al bajo número de pacientes incluidos. No obstante, hay que considerar también que dos de los pacientes con linfoma fueron categorizados como de etiología combinada, por tener un factor infeccioso concomitante, y que se optó por considerar el tiempo de SV a partir del inicio de los síntomas y no del momento en que se realizó el diagnóstico.

El SHF de causa infecciosa fue la segunda variante identificada en frecuencia. El virus de Epstein Barr (VEB) es uno de los que más frecuentemente se describe como causante del SHF: se demostró la presencia de VEB en 10 de los 29 pacientes con SHF de origen infeccioso en el trabajo de Li et al.⁽⁶⁾. El VEB, a su vez, suele detectarse en pacientes con SHF-L, con frecuencias que oscilan entre un 90% en el linfoma de Hodgkin hasta un 33% en el linfoma de células T periféricas⁽¹⁶⁾. Algunos estudios sugieren que los pacientes con infección activa por VEB y elevada carga viral tendrían peor evolución⁽¹⁵⁾, y que podrían beneficiarse con el agregado de rituximab al tratamiento⁽¹⁷⁾. En nuestra casuística, sólo dos pacientes presentaron infección documentada por el VEB. No obstante, durante gran parte del estudio no se contó con la posibilidad de detección por PCR del VEB, con lo cual la incidencia real probablemente esté subestimada.

Además de la etiología, otras variables se vieron correlacionadas con aumento de mortalidad: la edad avanzada al momento del diagnóstico⁽¹⁸⁾, el tiempo de protrombina prolongado en un rango mayor a 3 segundos⁽⁹⁾, el compromiso del SNC⁽⁸⁾, niveles eleva-

dos de GOT⁽⁹⁾, la presencia de hipoalbuminemia⁽¹⁹⁾, la hipofibrinogenemia⁽¹¹⁾, niveles elevados de ferritina⁽¹¹⁾, la plaquetopenia^(6,7) con recuentos menores a 40.000/mm³, la hiponatremia⁽¹⁵⁾, la presencia de coagulación intravascular diseminada⁽¹⁵⁾ y la elevación de LDH por encima de 1.000 UI/L^(6,7). Asimismo, la tasa de declinación de la ferritina podría tener implicancia pronóstica: el descenso de los niveles de ferritina menor al 50% con respecto al valor al momento del diagnóstico, se asociaría a un riesgo de muerte 17 veces mayor con respecto al descenso de dichos valores en un porcentaje mayor al 96%⁽¹⁾. Según nuestra experiencia, los valores de ferritina tomados al día 15 tuvieron impacto significativo en la mortalidad de los pacientes, pero no los valores al momento del diagnóstico. El presente análisis tuvo sus limitaciones: la ferritina fue analizada como variable categórica tomando 500 ng/ml como punto de corte, y hubo 4 casos perdidos, por lo que estos datos y su interpretación deben ser tomados en cuenta con precaución.

Por otro lado, la respuesta al tratamiento instaurado fue significativa como predictora de SV, y la demora mayor a seis días en el inicio del tratamiento se correlacionó de forma no significativa con aumento de la mortalidad. Es por esto que se debería considerar el inicio del mismo si hay alta sospecha clínica de SHF, incluso si el paciente aún no reúne los criterios necesarios para el diagnóstico⁽⁹⁾.

El protocolo HLH-2004 es hoy el tratamiento estándar de elección, que permitió obtener una tasa de supervivencia global a 5 años del 55%. Tiene por objetivo suprimir el estado hiperinflamatorio responsable de los síntomas que ponen en riesgo la vida del paciente, e interrumpir la perpetuación de la activación de células T y macrófagos⁽²⁰⁾. Se basa en el empleo de inmunomodulación, con administración de dexametasona, etopósido y ciclosporina A durante un período de 8 semanas y el agregado de quimioterapia intratecal con corticoides y metotrexato si hay compromiso severo del sistema nervioso central⁽¹⁰⁾. Luego debe seguirse con un tratamiento de mantenimiento como puente a un trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) en pacientes con SHF familiar o SHF secundario recaído o refractario. A su vez, siempre debe tratarse la causa subyacente⁽⁹⁾. En casos de SHF con proceso infeccioso desencadenante se aconseja el agregado de gammaglobulina al tratamiento específico. Los corticoides son esenciales por sus efectos antiinfla-

matorios⁽²⁰⁾, y el etopósido constituye un pilar fundamental. Actuaría mediante tres mecanismos diferentes: 1) induciendo apoptosis de manera directa y selectiva en las células T activadas, sin afectar las células T de memoria o naïve⁽²¹⁾; 2) como inhibidor de la topoisomerasa induce errores en la replicación del ADN en las células que están proliferando, con apoptosis de células inmunes activas, lo que limita la liberación de citoquinas inflamatorias⁽²⁾; 3) inhibe la síntesis del antígeno nuclear del VEB y la transformación neoplásica de las células infectadas, lo cual le daría un rol más relevante en el SHF secundario a VEB⁽¹⁰⁾. Varios de los estudios a gran escala mencionados^(15,18) refuerzan el concepto de que aquellos pacientes que recibieron tratamiento combinado con corticoides y etopósido tuvieron mejor supervivencia que aquellos que recibieron monoterapia con glucocorticoides. En nuestro estudio, el 40% (n=6) presentó respuesta al tratamiento instaurado. Al comparar los resultados obtenidos entre aquellos que recibieron corticoides versus corticoides y etopósido, se observó una mejoría no significativa en la supervivencia en aquellos que recibieron corticoterapia únicamente. Esto posiblemente se deba a que los pacientes que recibieron etopósido eran en su mayoría aquellos con SHF-L, que, como ya se dijo, tendría peor evolución, y los que recibieron monoterapia con esteroides fueron aquellos con infección como enfermedad subyacente. Ninguno de los pacientes incluidos recibió ciclosporina, por falta de disponibilidad de la medicación al momento del diagnóstico del cuadro.

La administración de globulina anti-timocito (GAT), corticoides, ciclosporina y quimioterapia intratecal con metotrexato constituye hoy otra alternativa terapéutica, con resultados similares al protocolo HLH-94⁽²³⁾.

En los casos de SHF primario, así como en aquellos con SHF secundario refractario, el trasplante de células progenitoras hemopoyéticas (TCPH) sigue siendo la única alternativa de curación para evitar potenciales recidivas⁽²⁾. Con el uso de regímenes de acondicionamiento de intensidad reducida (RIC), basados en fludarabina, melfalán y alemtuzumab, la tasa de supervivencia mejoró al 90%, comparado con el 60% obtenido con esquemas mieloablativos⁽¹⁰⁾, que acarrearán una mortalidad relacionada al tratamiento del 30%⁽²⁰⁾.

A pesar de los beneficios sustanciales descriptos

en relación al tratamiento específico, hay que tener presente que el mismo constituye un arma de doble filo: por un lado, detiene con eficacia el proceso hiperinflamatorio responsable de tanto daño orgánico, pero por otro genera inmunosupresión prolongada, lo cual podría llevar a la reactivación del agente infeccioso gatillante, y mayor susceptibilidad a infecciones por nuevos microorganismos. Por esto no todos los pacientes son candidatos al tratamiento completo al momento del diagnóstico, sino que la terapéutica debe ser individualizada según la etiología y el contexto clínico de cada paciente⁽²⁾.

Conclusiones

El SHF es una enfermedad poco frecuente pero de elevada morbimortalidad, de entre 40 y 70%, con signos y síntomas variados. Este trabajo, pese al bajo número de pacientes, corrobora esta información:

los pacientes incluidos presentaron manifestaciones clínicas y bioquímicas en una frecuencia similar a lo reportado en los otros estudios, y la tasa de mortalidad fue del 66,67%. Además se pudo identificar que la falta de respuesta completa a la cuarta semana y diferentes variables medidas al día 15, como la ferritina, LDH y hemoglobina, se correlacionaban de manera significativa con el riesgo de muerte. Esto podría servir para el desarrollo de nuevos estudios prospectivos con mayor cantidad de pacientes que puedan evaluar la relevancia de estos datos, a fin de mejorar la estratificación del riesgo y optimizar la terapéutica. Hay que sospechar el SHF como posible diagnóstico en todo paciente que presenta fiebre, citopenias y hepatoesplenomegalia, realizar las pruebas pertinentes para su confirmación o exclusión, e iniciar el tratamiento de manera temprana, ajustado a las condiciones clínicas del paciente.

Conflictos de interés: Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

- Zaher K, Otrrock and Charles S. Eby. Clinical characteristics, prognostic factors, and outcomes of adult patients with haemophagocytic lymphohistiocytosis. *Am J Hematol.* 2015 Mar; 90(3):220-4.
- Janka GE, Lemberg K. Haemophagocytic syndromes – An update. *Blood Rev.* 2014 Jul; 28(4):135-42.
- Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, López-Guillermo A et al. Adult haemophagocytic syndrome. *Lancet.* 2014 Apr 26; 383(9927):1503-1516.
- Karlsson T. Secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis: experience from the Uppsala University Hospital. *Ups J MedSci.* 2015; 120(4):257-62.
- Brisse E, Wouters CH. Advances in the pathogenesis of primary and secondary haemophagocytic lymphohistiocytosis: differences and similarities. *Br J Haematol.* 2016 Jul; 174(2):203-17.
- Li F, Yang Y, Jin F et al. Clinical characteristics and prognostic factors of adult hemophagocytic syndrome patients: a retrospective study of increasing awareness of a disease from a single-center in China. *Orphanet J Rare Dis.* 2015 Feb 15; 10:20.
- Schram AM, Comstock P, Berliner N et al. Haemophagocytic lymphohistiocytosis in adults: a multicenter case series over 7 years. *Br J Haematol.* 2016 Feb; 172(3):412-9.
- Campo M, Berliner N. Hemophagocytic lymphohistiocytosis in Adults. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2015 Oct; 29(5):915-25.
- Zhou M, Li L, Zhang Q et al. Clinical features and outcomes in secondary adult hemophagocytic lymphohistiocytosis. *QJM.* 2018 Jan 1; 111(1):23-31.
- Brisse E, Matthys P and Wouters CH. Understanding the spectrum of haemophagocytic lymphohistiocytosis: update and diagnostic challenges and therapeutic options. *Br J Haematol.* 2016 Jul; 174(2):175-87.
- Park HS, Kim DY, Lee JH et al. Clinical features of adult patients with secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis from causes other than lymphoma: an analysis of treatment outcome and prognostic factors. *Ann Hematol.* 2012 Jun; 91(6):897-904.
- Machaczka M, Vaktas J, Klimkowska M et al. Malignancy-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults: a retrospective population-based analysis from a single center. *Leuk Lymphoma.* 2011 Apr; 52(4):613-9.
- Ghose A, Yellu M, Wise-Draper T et al. Lymphoma presenting as secondary HLH: a review with a tale of two cases. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2014 Dec; 14(6):e187-93.
- Han A, Lee H, Park S et al. Lymphoma associated hemophagocytic syndrome: clinical features and treatment.

- ment outcome. *Ann Hematol.* 2007 Jul; 86(7):493-8.
15. Brito-Zeron P, Kostov B, Ramos-Casals M et al. Prognostic factors of death in 151 adults with hemophagocytic syndrome: etiopathogenically driven analysis. *Mayo ClinProcInnovQual Outcomes.* 2018 Aug 1; 2(3):267-276.
 16. Lehmsberg K, Nichols KE, Henter JI et al. Consensus recommendations for the diagnosis and management of hemophagocytic lymphohistiocytosis associated with malignancies. *Haematologica.* 2015 Aug; 100(8):997-1004.
 17. Chellapandian D, Wiener S, Zelle C et al. Use of the anti-CD20 antibody Rituximab in the treatment of Epstein-Barr virus-induced hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood* 2011 118:2178.
 18. Arca M, Fardet L, Coppo P et al. Prognostic factors of early death in a cohort of 162 adult haemophagocytic syndrome: impact of triggering disease and early treatment with etoposide. *Br J Haematol.* 2015 Jan; 168(1):63-8.
 19. Parikh SA, Kapoor P, Letendre L, et al. Prognostic factors and outcomes of adults with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Mayo ClinProc.* 2014 Apr; 89(4):484-92.
 20. Janka GE. Familial and acquired haemophagocytic lymphohistiocytosis. *AnnuRevMed.* 2012; 63:233-46.
 21. Schram AM, Berliner N. How I treat hemophagocytic lymphohistiocytosis in the adult patient? *Blood* 2015 May 7; 125(19):2908-14.
 22. Johnson TS, Terrel CE, Millen SH et al. Etoposide selectively ablates activated T cells to control the immunoregulatory disorder hemophagocytic lymphohistiocytosis. *J Immunol.* 2014 Jan 1; 192(1):84-91.
 23. Palmblad K, Schierbeck H, Sundberg E et al. High systemic levels of the cytokine-inducing HMGB1 isoform secreted in severe macrophage activation syndrome. *Mol Med.* 2015 Jan 27; 20:538-47.



Atribución – No Comercial – Compartir Igual (by-nc-sa): No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original. Esta licencia no es una licencia libre.

Valoración del tiempo en rango terapéutico en pacientes bajo tratamiento con antagonistas orales de la vitamina K en un centro de anticoagulación



ARTICULO ORIGINAL

HEMATOLOGÍA
Volumen 24 N° 1: 32-39
Enero - Abril 2020

Time assessment in the therapeutic range in patients under treatment with oral vitamin K antagonists in an anticoagulation center

González FL, González Silva NE, Orтели Tomada GM, Sancassani PE, Mathieu ME.

Departamento de Hemostasia y Trombosis. Servicio de Medicina Transfusional. Hospital Italiano. Córdoba. Argentina.

fernandalaura.gonzalez@gmail.com

Fecha recepción: 02/4/2020
Fecha aprobación: 20/4/2020

Palabras claves: tiempo en rango de tratamiento, fibrilación auricular, remplazo valvular mecánico.

Keywords: time in therapeutic range, atrial fibrillation, mechanical valve replacement.

Resumen

Los anticoagulantes orales, dicumarínicos, se utilizan en diversas patologías para la prevención primaria y secundaria de eventos tromboembólicos venosos y arteriales. Tienen una compleja farmacocinética y farmacodinamia resultando en un rango terapéutico muy estrecho. Por lo tanto, la monitorización y el estricto control de la terapia anticoagulante son fundamentales. La eficacia de estos fármacos reside en un porcentaje bajo de episodios isquémicos y hemorrágicos relacionados con porcentajes elevados de tiempo en rango terapéutico (TRT) asociados a una anticoagulación correctamente controlada.

El presente es un trabajo retrospectivo que fue realizado sobre 495 adultos que concurrieron al Depar-

tamento de Hemostasia y Trombosis del Servicio de Medicina Transfusional del Hospital Italiano por estar bajo tratamiento con anticoagulantes orales de los cuales se obtuvieron los valores de TRT de sus historias clínicas calculados mediante el método de Rosendaal.

Este estudio tiene como objetivos determinar el TRT para conocer el nivel de anticoagulación alcanzado y valorar si la edad, sexo, diagnóstico y tipo de anticoagulante se asocian con peores resultados. El TRT total de la muestra presentó una mediana (Me) de 64,0% (IIC 53,0 - 77,0). Se analizó también el porcentaje del tiempo en que los pacientes estuvieron fuera de rango ya sea por encima o por debajo de los valores aceptados, que fue del 36,0%. No se encontraron diferencias estadísticamente sig-

nificativas en los niveles de TRT entre los distintos grupos ni en el total de pacientes en las siguientes variables: sexo, tipo de anticoagulante y edad. Por el contrario, se encontró diferencia estadísticamente significativa en el valor de TRT del grupo de pacientes con reemplazo valvular frente a pacientes con otros diagnósticos.

Conocer el valor de TRT es importante, ya que nos permite identificar el nivel de atención anticoagulante y establecer nuevas metas. Los valores obtenidos en esta investigación se asemejan a la experiencia publicada por centros de anticoagulación reconocidos a nivel nacional e internacional y nos permiten replantear estrategias para la mejora en la calidad y desempeño del servicio.

Abstract

Oral dicumarinic anticoagulants are used in various pathologies for the primary and secondary prevention of venous and arterial thromboembolic events. They have complex pharmacokinetics and pharmacodynamics resulting in a very narrow therapeutic range. Therefore, monitoring and strict control of anticoagulant therapy are essential. The efficacy of this medical treatment resides in a low percentage of ischemic and hemorrhagic episodes related to percentages of therapeutic interval time (TTR) associated with correctly controlled anticoagulation. This retrospective study was carried out on 495 adults population who attended the Hemostasis and Thrombosis Department of the Transfusion Medicine Service of the Italian Hospital for being under treatment with oral anticoagulants, from which the TTR values were obtained from their medical records calculated by the Rosendaal method.

The purposes of this study are to determine the TTR to know the reached anticoagulation level and to assess whether age, gender, diagnosis and type of anticoagulant are associated with worse outcomes.

The median (Me) TRT value from the total samples was 64.0% (IIC 53.0 - 77.0). The mean out of range time (either above or below the accepted values) was also calculated with a value of 36.0%

No statistically significant differences were found in the levels of TTR among the different groups or in the total of patients in the following variables: gender, type of anticoagulant and age. On the other hand, a statistically significant difference was found in the TTR value of the group of patients with valve

replacement vs. patients with other diagnoses.

Knowing the TTR value is important, as it enables us to identify the level of anticoagulant care and to establish new goals. Values obtained in this research are similar to the experience published by nationally and internationally recognized anticoagulation sites and allow us to reconsider strategies to improve quality and performance of service.

Introducción

Los anticoagulantes orales antivitaminas K, warfarina y acenocumarol, fueron descubiertos hace varias décadas y se utilizan hasta el día de hoy en la medicina para la prevención primaria y secundaria de eventos tromboembólicos venosos y arteriales. Son los fármacos utilizados para el tratamiento de diversas patologías, tales como fibrilación auricular (FA), reemplazo valvular mecánico (RVM), trombosis venosa profunda (TVP), embolismo pulmonar (EP), entre otras. Su mecanismo de acción es interferir en el ciclo de la vitamina K produciendo la disminución de las formas biológicamente activas de los factores de la coagulación, dificultando así la formación y crecimiento de trombos⁽¹⁾.

El control de la anticoagulación oral se basa en el tiempo de protrombina expresado como razón internacional normalizada (RIN)⁽²⁾.

El motivo por el cual se anticoagula a un paciente define el rango terapéutico a utilizar que es de 2,00 - 3,00, con excepción de aquellos pacientes que presentan RVM, donde es de 2,50 - 3,50⁽³⁾.

El tiempo en rango terapéutico (TRT) se define como el tiempo en el que el RIN se mantiene dentro de estos valores.

La eficacia de este tratamiento reside en un porcentaje bajo de episodios isquémicos y hemorrágicos relacionados con porcentajes elevados de TRT asociados a una anticoagulación correctamente controlada⁽⁴⁾.

Los fármacos antivitaminas K tienen una farmacocinética y farmacodinamia complejas, por lo que lograr permanecer en un rango estable es difícil debido al estrecho rango terapéutico de la medicación, edad avanzada de muchos de los pacientes, frecuencia de comorbilidades, ingesta de otros medicamentos, insuficiencia renal, hepática, malnutrición. Por lo tanto, la monitorización y el control estricto de la terapia anticoagulante son fundamentales para reducir el riesgo de eventos tromboembólicos o sangrados.

En base a estudios multicéntricos publicados, como RELY, ARISTOTLE o ROCKET AF, se utilizó para evaluar la calidad de monitorización de la anticoagulación el TRT obtenido por método Rosendaal. Este cálculo matemático parte de la premisa de que el RIN cambia en progresión lineal entre dos valores consecutivos y logra, de esta forma, calcular el valor de RIN específico para cada día⁽⁵⁻⁸⁾.

Esta investigación tiene como objetivos principales determinar el TRT de pacientes que concurren al servicio con diagnóstico de FA, RVM y otras patologías que requieran anticoagulación oral, y valorar si la edad, sexo, diagnóstico y tipo de anticoagulante se asocian con peores resultados.

Material y métodos

Se incluyeron en el estudio 495 adultos que concurren al Departamento de Hemostasia y Trombosis del Servicio de Medicina Transfusional del Hospital Italiano, entre el 1 de junio de 2016 hasta el 31 de junio de 2018 para realizar controles de RIN por estar bajo tratamiento con anticoagulantes orales, ya sea con warfarina o acenocumarol. Los datos se obtuvieron de las historias clínicas. Para evitar que haya sesgo de selección se evaluaron los pacientes que concurren al servicio de forma consecutiva. A cada paciente se le tomó los valores correspon-

dientes al período de 12 meses de tratamiento. Se incluyeron a todos los que se encontraban en tratamiento por más de un año y que tuvieran como mínimo 7 controles de RIN durante el período de estudio. Se aclara que en el presente no se incluyeron pacientes vírgenes de tratamiento. En el caso de pacientes que fueran sometidos a intervenciones, ya sea procesos quirúrgicos u odontológicos donde se vieran obligados a interrumpir esta medicación, la postura tomada fue descontar el lapso correspondiente a la suspensión del anticoagulante oral, en el caso de warfarina 8 días y en acenocumarol 6 días. Se excluyeron aquellos pacientes con interrupciones temporales de la anticoagulación. Los datos demográficos se muestran en la Tabla 1.

El protocolo de estudio fue realizado conforme a las normas éticas de la declaración de Helsinki 1975 preservando la intimidad de los participantes y la confidencialidad de su información personal.

Se procedió a elaborar un instrumento de recolección de la información en una planilla de Excel donde se registraron todos los datos necesarios.

El total de pacientes fue dividido en tres grupos, teniendo en cuenta el rango etario de los mismos: pacientes ≤ 70 años (grupo A), pacientes entre 71 y 80 años (grupo B), pacientes ≥ 81 años (grupo C).

Por otro lado se dividió a los pacientes teniendo en

Tabla 1. Datos demográficos de la población global en estudio (N=495)

Cantidad de pacientes	495 (100%)
Mediana de edad (años)	75 [29 - 95]
Sexo (M/F)	263 / 232 (53,1% / 46,9%)
Tipo de anticoagulante (warfarina/acenocumarol)	317 / 178 (64,1% / 35,9%)
Causas de anticoagulación	
FA	250 (50,5%)
RVM	100 (20,2%)
Otras causas	145 (29,3%)
Media número de visitas (por año)	12 [7 - 19]

NOTA. Entre corchetes se muestra el rango. Entre paréntesis el porcentaje respecto al total de pacientes.

cuenta las causas por las cuales estaban bajo tratamiento anticoagulante: pacientes con FA (grupo 1), pacientes con RVM (grupo 2), pacientes con otras patologías que requieran anticoagulación (grupo 3). Dentro de este último grupo se incluyeron patologías tales como: ACV isquémico, TVP, EP, hipertensión pulmonar, trombo intracavitario, infarto agudo de miocardio, síndrome antifosfolípido, trombosis ocular, cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca severa, coronariopatía severa, cardiomegalia, bypass aorto-coronario, trombosis apical, aneurismectomía. (Tablas 2 y 3). Se calculó TRT para cada paciente a través del mé-

todo de Rosendaal. Los rangos terapéuticos utilizados para este cálculo fueron de 2,00 - 3,00 para los grupos 1 y 3, mientras que para el grupo 2 fue de 2,50 - 3,50. Todos los pacientes con RVM, tanto mitral como aórtico, manejaron el mismo rango de anticoagulación.

Las variables que se estudiaron para ser asociadas a peor pronóstico fueron: edad, sexo, diagnóstico y tipo de anticoagulante.

Se realizó un análisis descriptivo de las variables cualitativas expresado en porcentaje y para las variables cuantitativas media, desviación estándar, mediana (Me) e intervalo intercuartiles (IIC).

Tabla 2. Datos demográficos de la población en estudio (N=495) teniendo en cuenta la edad de los pacientes.

	Menores de 70 años (Grupo A)	71 - 80 años (Grupo B)	Mayores de 80 años (Grupo C)
Cantidad de pacientes (%)	155 (31,0%)	210 (42,4%)	130 (26,3%)
Mediana de edad (años)	66 [29 - 70]	75 [71 - 80]	85 [81 - 95]
Sexo (M/F)	80/75	132/78	51/79
Tipo de anticoagulante (warfarina/acenocumarol)	97/58	135/75	85/45
Causas de anticoagulación			
FA	59 (38,1%)	110 (52,4%)	81 (62,3%)
RVM	47 (30,3%)	40 (19,0%)	13 (10,0%)
Otras causas	49 (31,6%)	60 (28,6%)	36 (27,7%)

NOTA. Para cada grupo etario se muestra en corchetes el valor correspondiente al rango poblacional. El porcentaje expresado en las causas de anticoagulación corresponde al total de pacientes de cada grupo etario.

Tabla 3. Datos demográficos de la población en estudio (N=495) teniendo en cuenta el diagnóstico de los pacientes.

	FA (Grupo 1)	RVM (Grupo 2)	Otras causas (Grupo 3)
Cantidad de pacientes (%)	250 (50,5%)	100 (20,2%)	145 (29,3%)
Mediana de edad (años)	76 [41 - 95]	71 [29 - 85]	74 [38 - 93]
Sexo (M/F)	220/30	74/26	117/28
Tipo de anticoagulante (warfarina/acenocumarol)	154/96	75/25	88/57

NOTA. Para cada grupo se muestra en corchetes el valor correspondiente al rango poblacional.

Para evaluar estadísticamente la normalidad se utilizó el test de Shapiro - Wilks modificado y para la comparación entre los valores se empleó el test no paramétrico de Wilcoxon - Mann - Whitney U. Las diferencias entre las medias de los distintos grupos se evaluaron por el test de Kruskal - Wallis. En todos los casos el nivel de significancia considerado fue de $p < 0,05$. El programa informático con el cual se realizó el análisis estadístico fue InfoStat (Centro de Transferencia InfoStat, FCA. Versión 2018, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

Como agregado al análisis se modificaron ligeramente los rangos terapéuticos utilizando un rango práctico de 2,40 - 3,60 para los pacientes con diagnóstico de RVM y de 1,90 - 3,10 para el resto de las patologías.

También se obtuvieron de las historias clínicas los episodios tromboembólicos y hemorrágicos reportados durante el tiempo de estudio.

Resultados

Los 495 pacientes incluidos en el estudio tenían una edad promedio de $73,9 \pm 9,9$ con una Me de 75 años y un rango de 29 - 95 años, siendo el 53,1% de sexo masculino. Los pacientes tuvieron un promedio de 12 visitas/año (rango: 7 - 19) con un intervalo de control de su anticoagulación de 30 días. La mayoría de los pacientes estaban tratados con warfarina (64,1%) en comparación a un 35,9% con acenocumarol.

La principal causa de anticoagulación fue por arritmia de tipo FA 50,5%, porcentaje que se incrementaba con la edad.

El TRT total de la muestra presentó una Me de

64,0% (IIC 53,0 - 77,0). Se analizó también el porcentaje del tiempo en que los pacientes estuvieron fuera de rango (36,0%) ya sea por encima o por debajo de los valores aceptados (Tabla 4).

Respecto a los distintos niveles de TRT se encuentra que el 79% del total de pacientes obtuvo un $TRT \geq 50\%$ frente a un 39% que obtuvo $TRT \geq 70\%$ (Tabla 5).

En cuanto a la modificación del rango terapéutico a rangos de 1,90 - 3,10 y 2,40 - 3,60 se observa que el porcentaje de pacientes con $TRT \geq 70\%$ se eleva 1,5 veces. (Figura 1)

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de TRT entre los distintos grupos ni en el total de pacientes en las siguientes variables: sexo (Me $TRT_{masculino}$ = 65% vs. Me $TRT_{femenino}$ = 63% p valor = 0,0678), tipo de anticoagulante (Me $TRT_{acenocumarol}$ = 63% vs. Me $TRT_{warfarina}$ = 65% p valor = 0,0503) y edad (Me $TRT_{grupo A}$ = 66%, Me $TRT_{grupo B}$ = 64%, Me $TRT_{grupo C}$ = 64,50% p valor = 0,9652).

Por otro lado, el valor de TRT obtenido entre los distintos grupos según el diagnóstico mostró diferencias estadísticamente significativas entre el grupo 2 y los grupos 1 y 3 siendo las Me de 58%, 64% y 68% respectivamente con un p valor de 0,0031.

Del total de pacientes estudiados sólo el 10,3% (51 pacientes) registró eventos adversos. Se reportaron 8 pacientes (1,6%) con episodios tromboembólicos, entre ellos ACV isquémico (6), TEV (1) y TEP (1) donde el 50% (4) tenía un $TRT > 65\%$. No hubo pacientes con más de un episodio isquémico reportado. Respecto a los eventos hemorrágicos, el 8,3% (43 pacientes) tuvieron episodios de sangrado en su mayo-

Tabla 4. Análisis del tiempo en rango.

	Mediana	IIC
Tiempo en rango terapéutico	64,0%	53 - 77
Tiempo fuera de rango	36,0%	
Tiempo con RIN supraterapéutico	16,0%	4 - 23
Tiempo con RIN subterapéutico	20,0%	9 - 29

Tabla 5. Porcentaje de pacientes en cada nivel de TRT

Nivel de TRT	% de pacientes
$TRT \geq 70\%$	39%
$TRT \geq 60\%$	58%
$TRT \geq 50\%$	79%

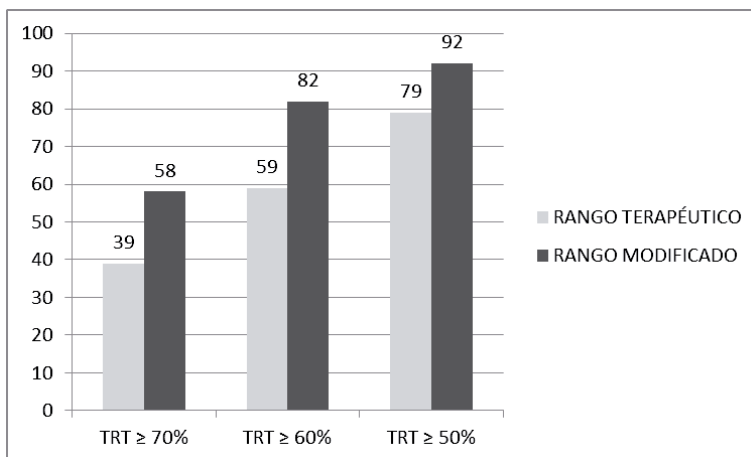


Figura 1. Variación al modificar ligeramente los rangos terapéuticos.

ría debido a hematuria (14) y hematoma por trauma (11). El 73% de éstos presentaron un solo episodio de sangrado y en el 90% de los casos el TRT fue mayor a 62%. No se reportaron hemorragias mayores.

Discusión

El objetivo principal de la terapia con dicumarínicos es reducir las complicaciones hemorrágicas y trombóticas en el paciente y estas variables tienen una fuerte correlación con los valores de TRT.

El valor para el mismo que se obtuvo fue de 64% el cual es comparable con los resultados encontrados en estudios retrospectivos publicados por otros países⁽⁹⁻¹⁰⁾.

Este valor es similar al que se obtuvo en el trabajo TERRA (TRT Me=67,5% IIC 54 - 80) donde participaron más de 10 clínicas de anticoagulación del país. Este estudio tuvo como objetivos mostrar el nivel de anticoagulación efectiva llegando a resultados similares a los observados en ensayos clínicos internacionales. Por lo tanto, basándonos en esto, podríamos decir que los resultados obtenidos nos posicionan dentro de un estándar internacional aceptable⁽¹¹⁾.

A diferencia de estudios observacionales de centro único publicados, en donde se encontraron diferencias en los valores de TRT respecto a edad y sexo, como lo es el caso del estudio de Alania y colaboradores donde el TRT en el sexo masculino era de 61,5% vs 50,9%, en nuestro trabajo no se observó la misma tendencia, a pesar de tener poblaciones similares⁽¹²⁻¹³⁾.

En 2009 se publicó un trabajo retrospectivo, lon-

gitudinal cuyo objetivo era analizar y comparar la eficacia terapéutica de warfarina y acenocumarol en una población ambulatoria, con la particularidad que se correlacionó el efecto de ambos fármacos con la presencia de hemorragias mayores y menores sin encontrar diferencias en los resultados. Si bien nuestro trabajo no hizo esa correlación los valores obtenidos fueron similares⁽¹⁴⁾.

En la literatura se encuentra que la mayoría de las investigaciones se realizan en grupos de pacientes que tienen como diagnóstico FA no valvular, pero son menos los que correlacionan el TRT con el riesgo de complicaciones en pacientes con diagnóstico de RVM. Mantener los niveles de anticoagulación en los rangos terapéuticos es indispensable en este grupo por el elevado riesgo de oclusión de la válvula que se incrementa de 1% a 13% en aquéllos que no reciben tratamiento⁽¹⁵⁾. En el presente trabajo el valor de TRT obtenido para estos pacientes es significativamente menor respecto a los otros dos grupos y al global. Un punto a tener en cuenta es que este grupo presenta la menor cantidad de pacientes, ya que la selección de los mismos fue aleatoria y no dependiente del diagnóstico. Se debería aumentar el número para que sea comparable con los demás. Sin embargo, los valores de TRT encontrados se asemejan con los obtenidos en el estudio observacional y multicéntrico PLECTRUM publicado por un grupo italiano, donde el TRT fue de 60% vs 58% que obtuvimos nosotros. En el trabajo antes mencionado se estudiaron 2357 pacientes y observaron que, a pesar de tener controles en rangos subóptimos, el riesgo de eventos embólicos o hemorrágicos era bajo e in-

cluso el riesgo de tromboembolismo no estaba asociado con niveles bajos de TRT⁽¹⁶⁻¹⁷⁾.

Si bien no se correlacionó si los valores bajos de TRT se asociaban a un mayor número de complicaciones, tanto tromboembólicas como hemorrágicas se obtuvieron de las historias clínicas los eventos adversos reportados durante el tiempo de estudio. Estos valores son estimativos, ya que al ser un trabajo retrospectivo existe la posibilidad de que no se hayan registrado todos los eventos. Se sabe que en realidad el valor obtenido de TRT simplemente brinda una idea de la calidad del control de anticoagulación y que son los eventos clínicos desfavorables lo realmente importante. Este trabajo nos permitió mejorar los registros de eventos adversos para proporcionar una mejor calidad de anticoagulación y para que puedan ser considerados en futuras investigaciones.

La principal limitación de este estudio es que es retrospectivo. Si bien se tuvo en cuenta los diferentes rangos terapéuticos según el tipo de patología, no se analizó los valores del índice CHA2DS2-VASc para aquellos pacientes con diagnóstico de FA. Esta clasificación identifica los factores de riesgo prevalentes para tromboembolismo, describiéndose a la población sin realizar ningún análisis sobre esta base. El método de Rosendaal presupone que hay una progresión lineal entre valores consecutivos de RIN, situación que no se ve reflejada en aquellos pacientes con valores elevados de RIN donde debe adminis-

trarse vitamina K si bien el porcentaje es bajo (TRT supratrapéutico 16%).

Como la mayoría de los pacientes eran de edad avanzada, la existencia de ciertas comorbilidades es mayor y con ello la necesidad de someterse a intervenciones donde se debe interrumpir la anticoagulación. Este tiempo fue descontado en el cálculo del TRT pero no todos los pacientes logran volver a niveles estables en el mismo lapso de tiempo.

Conclusiones

Conocer el valor de TRT es importante ya que permite identificar el nivel de atención anticoagulante y establecer nuevas metas.

Los resultados obtenidos muestran la dificultad en el manejo de la terapia con estas drogas.

La implementación del cálculo del TRT de los pacientes ayudaría, de manera individual, a identificar aquéllos que requieran controles más frecuentes, el cambio a otras terapéuticas permitidas o la rentabilidad del uso de los nuevos anticoagulantes orales.

De acuerdo con el *American College of Chest Physicians (ACCP)*, la calidad del control de anticoagulación es crucial para asegurar óptimos resultados durante la terapéutica con dicumarínicos. Los valores obtenidos en esta investigación se asemejan a la experiencia publicada por centros de anticoagulación reconocidos a nivel nacional e internacional y nos permiten replantear estrategias para la mejora en la calidad y desempeño del servicio.

Conflictos de interés: Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

References

1. Wadelius M, Chen LY, Eriksson N y col. Association of warfarin dose with genes involved in its action and metabolism. *Hum Genet.* 2006; 121(1):23-34.
2. Baccouche H, Chakroun A, Zoghalmi A y col. The international normalized ratio (INR): What reagent, what instrument? The assessment of the agreement between INR values according to different reagent/instrument combinations. *J Clin Pharm Ther.* 2017; 43(1):52-58.
3. Dentali F, Pignatelli P, Malato A y col. Incidence of thromboembolic complications in patients with atrial fibrillation or mechanical heart valves with a subtherapeutic international normalized ratio: A prospective multicenter cohort study. *Am J Hematol.* 2012; 87:384-387.
4. Gómez A, Peixoto S, Azcúnaga M y col. Calidad de la anticoagulación oral con warfarina en una policlínica de cardiología: porcentaje de tiempo en rango terapéutico. *Revista Uruguaya de Cardiología.* 2014; 29(3): 311-316.
5. Connolly SJ, Ezekowitz MD, Yusuf S y RE-LY Steering Committee and Investigators. Dabigatran versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med.* 2009; Sep 17 361(12):1139-51.
6. Patel MR, Mahaffey KW, Garg J y ROCKET AF Investigators. Rivaroxaban versus warfarin in nonvalvular atrial fibrillation. *N Engl J Med.* 2011; 365:883-91.

7. Granger CB, Alexander JH, McMurray JJ y ARISTOTLE Committees and Investigators. Apixaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med*. 2011; 365:981-92.
8. Lafarge L, Khayi F, Bel-Kamel A y col. Time in Therapeutic Range of Oral Vitamin K Antagonists in Hospitalized Elderly Patients. *Drugs Aging*. 2018; 35(6):569-574.
9. Caldeira D, Cruz I, Morgado G y col. Evaluation of time in therapeutic range in anticoagulated patients: a single-center, retrospective, observational study. *BMC Res Notes*. 2014; (7):891.
10. Hallinen T, Soini EJ, Asseburg C y col. Warfarin treatment among Finnish patients with atrial fibrillation: retrospective registry study based on primary health-care data. *BMJ. Open* 2014; 4(2): e004071.
11. Tajer CD, Ceresetto JM, Bottaro F y col. Evaluación del tiempo en rango terapéutico en pacientes con fibrilación auricular tratados crónicamente con antagonistas de la vitamina K por especialistas en hemostasia de la Argentina. *Registro TERRA (Tiempo En Rango en la República Argentina) Hematología*. 2016; 20(1): 9-26.
12. Harold M, Osorio S, Giraldo DP y col. Tiempo en rango terapéutico (TRT) en clínica de anticoagulación. *Acta Médica Colombiana*. 2016; 41(1):42-48.
13. Alania E, Vázquez E, García-García F y col. Tiempo en rango terapéutico de los pacientes que siguen tratamiento con derivados cumarínicos en la práctica clínica diaria. *CardiCore*. 2013; 48(4): 158-161.
14. Romero LR, Vargas MP, Letelier AV. Warfarina versus acenocumarol en alcanzar niveles terapéuticos en una población ambulatoria. *Rev Chil Cardiol*. 2009; 28(4): 375-9.
15. Akhtar RP, Abid AR, Zafar H y col. Anticoagulation in patients following prosthetic heart valve replacement. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 2009; 15:10-17.
16. Briasoulis A, Inampudi C, Akintoye E y col. Safety and Efficacy of Novel Oral Anticoagulants Versus Warfarin in Medicare Beneficiaries With Atrial Fibrillation and Valvular Heart Disease. *J Am Heart Assoc*. 2018; 7(8):e008773.
17. Poli D, Antonucci E, Pengo V y col. Mechanical prosthetic heart valves: Quality of anticoagulation and thromboembolic risk. The observational multicenter PLECTRUM study. *International Journal of Cardiology*. 2018; 68-73.



Atribución – No Comercial – Compartir Igual (by-nc-sa): No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original. Esta licencia no es una licencia libre.

Consideraciones para el uso del equivalente de hemoglobina reticulocitaria en la práctica diaria

Considerations for the use of the reticulocyte hemoglobin equivalent in daily practice

Fiorentini L¹; Paoletti M²; García A²; García A²; Ferreras R²; Cerviño F¹; García D¹.

¹ Laboratorio Sección de Hematología, Clínica 25 de Mayo

² Servicio de Hematología, Clínica 25 de Mayo

lorefiorentini@gmail.com

Fecha recepción: 25/2/2020

Fecha aprobación: 20/4/2020



ARTICULO ORIGINAL

HEMATOLOGÍA

Volumen 24 N° 1: 40-48

Enero - Abril 2020

Palabras claves: equivalente hemoglobina reticulocitaria, deficiencia de hierro, anemia.

Keywords: reticulocyte hemoglobin equivalent, iron deficiency, anemia.

Resumen

El equivalente de hemoglobina reticulocitaria (Ret-He) medido por algunos autoanalizadores hematológicos proporciona la cantidad de hemoglobina presente en los reticulocitos. Refleja la síntesis de hemoglobina en precursores medulares al corresponderse con la hemoglobinización de las últimas 48-72 horas. Correlaciona con eritropoyesis deficiente de hierro, por lo que se convirtió en una herramienta auxiliar eficaz para identificar deficiencia de hierro y para diagnóstico de anemia ferropénica (AF). Nuestro objetivo fue evaluar la utilidad del Ret-He para estudio de anemias y determinar el mejor punto de corte para diagnóstico de AF, así como analizar puntos de corte óptimos para tamizaje de estados ferropénicos. Se analizaron 213 pacientes con pedido de hemograma y recuento de reticulocitos, que se clasificaron como sin anemia (Sin-A, n: 80), anemia microcítica (AMi, n: 64), anemia normocítica (AN, n: 59) y anemia macrocítica (AMa,

n: 10). De los 213 pacientes, 113 tenían pedidos parámetros ferrocinéticos y se clasificaron como con ferropénicos (F, n: 54) y no ferropénicos (No-F, n: 47). La mediana (percentil 25 - percentil 75) de Ret-He (pg) fue 31,6 (30.3-32.7), 21,4 (19-23.6), 30,3 (27.5-31.8) y 38,2 (32.6-41.5) para Sin-A, AMi, AN y AMa, y 22,5 (18.9-26.6) y 31,2 (30.5-32.4) para F y No-F respectivamente. Únicamente No-F no mostró diferencias significativas respecto al grupo Sin-A ($p < 0,05$). El análisis de curvas ROC (*Receiver Operator Characteristic*) evidenció un desempeño de Ret-He similar al de la saturación de transferrina (*Area Under the Curve* (AUC): 0.95 y 0.96 respectivamente) y superior al de la ferritina (AUC: 0.90) y al del volumen corpuscular medio (AUC: 0.88). El punto con mejor sensibilidad (S) y especificidad (E) fue 28.45 pg (S/E: 87.04/89.36%). Ret-He < 28.05 pg (E: 95.74% y S: 81.48%) posee alta E para F; Ret-He > 29.90 pg descarta F (S: 94.44%), conservando E aceptable (82.98%).

Abstract

The reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret-He) measured by some hematological autoanalyzers provides the amount of hemoglobin present in reticulocytes. It reflects hemoglobin synthesis in hematological precursors, corresponding to the hemoglobinization of the last 48-72 hours. It correlates with iron deficient erythropoiesis, so it became an effective auxiliary tool to identify iron deficiency (ID) and to diagnose iron deficiency anemia (IDA). Our objective was to evaluate the usefulness of Ret-He for the study of anemia and to determine the best cut-off for the diagnosis of IDA, as well as to analyze optimal cut-off for ID screening. We analyzed 213 patients, who were classified as without anemia (No-A, n: 80), microcytic anemia (MiA, n: 64), normocytic anemia (NA, n: 59) and macrocytic anemia (MaA, n: 10). Of the 213 patients, 113 had requests for other parameters of iron availability and were classified as iron deficiency (ID, n: 54) and non-iron deficiency (No-ID, n: 47). The median (percentile 25 - percentile 75) of Ret-He (pg) was 31,6 (30.3-32.7), 21,4 (19-23.6), 30.3 (27.5-31.8) and 38,2 (32.6-41.5) for No-A, AMi, AN and AMa, and 22,5 (18.9-26.6) and 31,2 (30.5-32.4) for ID and No-ID respectively. The only group that did not show significant differences with No-A was No-ID ($p < 0.05$). Receiver operator characteristic (ROC) curve analysis shows that Ret-He has similar performance to transferrin saturation (area under the curve (AUC): 0.95 and 0.96 respectively) and superior to ferritin (AUC: 0.90) and to mean corpuscular volume (AUC: 0.88). The cut-off with best sensitivity (S) and specificity (E) was 28.45 pg (S/E: 87.04/89.36%). Ret-HE < 28.05 pg (E: 95.74% and S: 81.48%) has high E for ID while Ret-He > 29.90 pg discards ID (S: 94.44%), retaining an acceptable E (82.98%).

Introducción

Los reticulocitos representan a los eritrocitos inmaduros en el estadio final de diferenciación. Se originan de los eritroblastos ortocromáticos luego de la eyección del núcleo y maduran gradualmente, 3 días en médula ósea y 1 día en sangre periférica, con reducción gradual en la cantidad de RNA ribosomal y proteínas. Actualmente, su recuento se realiza con contadores hematológicos de última generación. Además de contar con mayor precisión, exactitud

y reproducibilidad que el método tradicional, aportan los índices reticulocitarios (IR), entre los que se encuentran la fracción de reticulocitos inmaduros (FRI) y el contenido de hemoglobina reticulocitaria (CHr o Ret-He)(1). Su determinación en distintos analizadores se basa en los mismos principios generales, dispersión de luz y colorantes afines al ARN. Sin embargo, el método empleado varía, por lo que los rangos de referencia (RR) no son intercambiables entre distintos contadores^(1,2). Resulta fundamental que cada laboratorio establezca o verifique sus RR y que el seguimiento se realice en el mismo lugar⁽³⁻⁶⁾.

El Ret-He proporciona la cantidad de hemoglobina presente en los reticulocitos y se corresponde a la hemoglobinización de las últimas 48-72 horas. Refleja la síntesis de hemoglobina en precursores medulares y correlaciona con eritropoyesis deficiente de hierro. Por algunos autores es considerado el marcador más directo de una síntesis adecuada de hemoglobina y se convirtió en una herramienta auxiliar eficaz para identificar estados ferropénicos y para diagnóstico de anemia ferropénica (AF).

El uso de Ret-He para diferenciar anemias microcíticas (AF, anemia de enfermedad crónica (AEC) y talasemia) ha sido estudiado por varios grupos de trabajo⁽⁸⁾. Carecer de utilidad en pacientes con hemoglobinopatías, que presentan valores muy disminuidos de Ret-He por la microcitosis característica, sin observarse diferencia con los obtenidos en AF⁽⁹⁾. En cuanto a su uso para diagnóstico de AF, AEC y anemia mixta (AF + AEC) existen resultados contradictorios⁽¹⁰⁻¹²⁾. Especialmente cuando la anemia es de origen multifactorial, frecuente al coexistir un proceso inflamatorio crónico con déficit de hierro, el diagnóstico de ferropenia puede ser difícil. La ferritina, al ser reactante de fase aguda, presenta utilidad limitada para evaluar los depósitos de hierro y, por lo tanto, el Ret-He tiene especial interés como marcador de depleción de depósitos. Clínicamente resulta importante diferenciar ferropenia funcional (AEC) y absoluta (AF o AEC-AF), dado que el suplemento de hierro beneficia al segundo grupo y es perjudicial para el primero. Los pacientes con enfermedad renal crónica constituyen un ejemplo de la utilidad del Ret-He en situaciones de anemia multifactorial. En dicha población este parámetro ha sido ampliamente estudiado e incorporado a la práctica diaria. En pacientes hemodializados recibiendo

terapia con eritropoyetina (EPO), la deficiencia de hierro es la principal causa de falta de respuesta al tratamiento. El tratamiento con Fe permite reducir la dosis de EPO en pacientes con ferropenia, mientras que resulta perjudicial en ausencia de depleción de hierro⁽¹³⁾. En este grupo, el Ret-He <29 pg se asocia a eritropoyesis restringida por Fe y predice buena respuesta a tratamiento⁽¹⁴⁻¹⁷⁾.

El uso del Ret-He se ha propuesto también para tamizaje de depósitos de hierro en población general y en poblaciones con riesgo elevado de ferropenia, sin embargo el punto de corte para tamizaje difiere en los distintos trabajos^(19,20).

Dado que el Ret-He provee una evaluación temprana de la actividad de la MO, a partir del tubo de hemograma y en el mismo tiempo de procesamiento, consideramos importante conocer su desempeño para implementarlo en la práctica diaria. El objetivo de nuestro trabajo es estudiar su utilidad para el estudio de anemias y determinar puntos de corte óptimos para diagnóstico y tamizaje de estados ferropénicos.

Materiales y métodos

Se llevó a cabo un estudio retrospectivo de corte transversal en el que se analizaron muestras de pacientes con diversas patologías que concurrieron al laboratorio durante un período de 5 meses con pedido de hemograma y recuento de reticulocitos. Se incluyeron 213 muestras de pacientes, 148 mujeres y 65 hombres, con edad media de 50,2 años (rango: 15-92 años). De los 213 pacientes, 113 (86 mujeres y 27 hombres) tenían pedidos parámetros para estudio de disponibilidad de hierro.

El proyecto fue aprobado por un Comité de Ética que otorgó la exención de presentación de consentimiento informado dadas las características del trabajo y según lo contempla la Resolución 1480/2011 del boletín oficial de la Guía para Investigaciones con Seres Humanos del Ministerio de Salud de la Nación.

Las muestras de sangre venosa obtenidas por venopunción fueron recolectadas en tubos de EDTA-3K y analizadas en un autoanalizador Sysmex-4000i, que emplea el fluorocromo polimetina y calcula el contenido de hemoglobina como Ret-He. Se mantuvieron a temperatura ambiente hasta el momento del análisis y se procesaron dentro de las 4 horas de la extracción. Se determinó hemograma completo, recuento de reticulocitos y Ret-He. La calibración del autoanalizador está a cargo de la em-

presa que lo provee. Se realizan controles de calidad internos diarios de tres niveles.

La determinación de ferritina (Ft), transferrina (Tf) y hierro (Fe) se realizó a partir de muestras recolectadas en tubos secos. Se analizaron en un equipo COBAS6000 mediante electroquimioluminiscencia (Ft y Tf) y método colorimétrico (Fe). La saturación de transferrina (sTf) se calculó como $sTf = Fe * 71 / Tf$.

Se definió anemia como mujeres con Hb <12 g/dl y hombres con Hb <13 g/dl según la OMS⁽²¹⁾. Los pacientes con anemia se clasificaron en función al volumen corpuscular medio (VCM) como anemia microcítica (AMi), anemia normocítica (AN) y anemia macrocítica (AMa) de acuerdo a las guías de diagnóstico y tratamiento de la SAH⁽²²⁾.

Se definió ferropenia como $sTf < 16\%$ y/o $Ft < 15 \mu g/l$ y/o $Fe < 60 \mu g/dl$, abarcando por lo tanto, los estadios I, II y III de déficit de hierro. Se clasificaron los pacientes como ferropénicos (F) y no ferropénicos (No-F). De los 113 pacientes incluidos inicialmente, se excluyeron dos por encontrarse con tratamiento con hierro vía oral y 11 por tener diagnóstico previo de talasemia.

Se utilizó el test de Mann-Whitney y el test de Kruskal-Wallis post test de Dunn's para comparación de medianas. Se consideró un p-valor <0,05 como estadísticamente significativo. Se realizó análisis de curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic*) para determinar la S y E para diagnóstico de déficit de hierro. Los datos se analizaron con el programa GraphPad Prism5.0 y los gráficos se realizaron en SigmaPlot10.0.

Resultados

Se clasificaron los pacientes (n: 213) según Hb y VCM: 80 Sin-A (49 mujeres y 31 hombres), 64 AMi (49 mujeres y 15 hombres), 59 AN (45 mujeres y 14 hombres) y 10 AMa (5 mujeres y 5 hombres). En la Tabla 1 se reportan los valores hematológicos para los 4 grupos de pacientes. Los niveles de Ret-He de los distintos grupos se representan en la Figura 1A. Los valores correspondientes a la mediana (percentil 25 - percentil 75) de Ret-He (pg) fueron 31,6 (30.3-32.7), 21,4 (19-23.6), 30.3 (27.5-31.8) y 38.2 (32.6-41.5) para Sin-A, AMi, AN y AMa respectivamente. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre todos los grupos estudiados (p<0,05). Los pacientes con AN se subclasificaron

en F (n: 19) y No-F (n: 37) según parámetros ferrocinéticos. Únicamente el primer grupo presentó diferencias significativas con los pacientes Sin-A. De los 100 pacientes con perfil de hierro incluidos, 54 fueron clasificados como F (46 mujeres y 7 hombres) y 47 como No-F (31 mujeres y 16 hombres).

En la Tabla 2 se describen los datos hematológicos y bioquímicos de ambos grupos. Los niveles de Ret-He se representan en la Figura 1B. Los valores correspondientes a la mediana (percentil 25 - percentil 75) de Ret-He (pg) fueron 22,5 (18.9-26.6) y 31,2 (30.5-32.4) para F y No-F respectivamente.

Tabla 1: Parámetros hematológicos para diferentes grupos clasificados en función de la Hb y el VCM.

	RBC (x10 ⁶ /mm ³)	Hb (g/dl)	HTO (%)	RDW (%)	VCM (fl)	HCM (pg)	RET-He (pg)
Sin-A (n:80)	4.7 (4.4-5.12)	13.6 (12.8-14.4)	41 (40-43)	13 (13-14)	87 (84-90)	29.3 (27.7-30.1)	31.6 (30.3-32.7)
A-Mi (n:64)	4.7 (4.2-5.1)	10.3 (8.6-11.2)	33 (30-35)	18 (16-19)	70 (63-76)	20.8 (19.6-23.3)	21.4 (19-23.6)
AN (n:59)	3.6 (3.2-4)	11.1 (9-11.6)	34 (30-35)	14 (13-16)	90 (85-93)	29.6 (27.2-31.4)	30.3 (27.5-31.8)
AMa (n:10)	2.6 (2.3-3.2)	9.6 (7.7-12.2)	28 (25-37)	15 (14-17)	106 (102-121)	33.9 (33.1-39.9)	38.2 (32.6-41.5)

Mediana (percentil25 - percentil75). RBC: recuento eritrocitos; Hb: hemoglobina; RDW: ancho de distribución de rojos; VCM: volumen corpuscular medio; HCM: hemoglobina corpuscular media; Ret-He: equivalente de hemoglobina reticulocitaria; Sin-A: sin anemia; AMi: anemia microcítica; AN: anemia normocítica; AMa: anemia macrocítica.

Tabla 2: Parámetros hematológicos y bioquímicos para diferentes grupos clasificados en función del perfil ferrocinético.

	HB (g/dl)	VCM (fl)	HCM (pg)	ReT-He (pg)	Fe (ug/dl)	sTf (%)	Ft (ug/l)
F (n:54)	10 (8.6-11.3)	76 (68-84)	23.3 (20.6-26.6)	22.5 (18.9-26.6)	29 (20-40.5)	7 (4.3-10)	8 (5.8-17.3)
No-F (n:47)	11.9 (10.4-12.9)	90 (85-96)	30.6 (29.4-32.1)	31.2 (30.5-32.4)	100 (83-134)	28 (23-41.4)	89 (39-283)

Mediana (percentil25 - percentil75). Hb: hemoglobina; VCM: volumen corpuscular medio; HCM: hemoglobina corpuscular media; Ret-He: equivalente de hemoglobina reticulocitaria; Fe: Hierro; sTf: saturación de transferrina; Ft: ferritina; F: pacientes ferropénicos; No-F: pacientes no ferropénicos.

Los pacientes F mostraron niveles significativamente menores que los Sin-A ($p < 0,05$), sin observarse diferencias significativas entre Sin-A y No-F.

La Figura 2 muestra el análisis de curvas ROC evaluando la utilidad diagnóstica de Ret-He, VCM, y HCM (2A) y Ret-He, Fe, sTf y Ft (2B). El área bajo la curva (AUC) de Ret-He fue de 0,96. Respecto de los parámetros del hemograma, mostró un des-

empeño similar a la HCM (AUC: 0,95) y superior al VCM (AUC: 0,88). Al comparar con los parámetros ferrocinéticos, evidenció un rendimiento similar al del Fe (AUC: 0,95), superior al de la Ft (AUC: 0,90) y levemente inferior a la sTf (AUC: 0,98). El valor punto de corte de Ret-He con mejor desempeño global fue de 28,45 pg. Los valores de S, E, valor predictivo positivo (VPP) y valor pre-

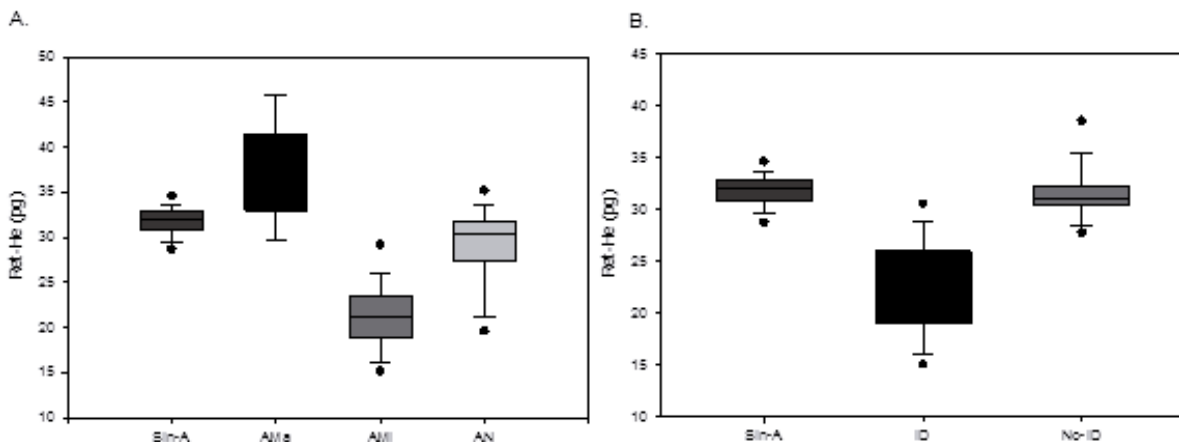


Figura 1. Gráfico de cajas mostrando los valores de Ret-He en diferentes grupos de pacientes. A. Pacientes sin anemia (Sin-A) y pacientes anémicos clasificados en función al VCM como anemia microcítica (VCM < 80 fl), normocítica (VCM: 81-99 fl) y macrocítica (VCM > 100 fl). B. Pacientes sin anemia (Sin-A) y pacientes clasificados en función al perfil de hierro como con ferropenia (F) y sin ferropenia (No-F).

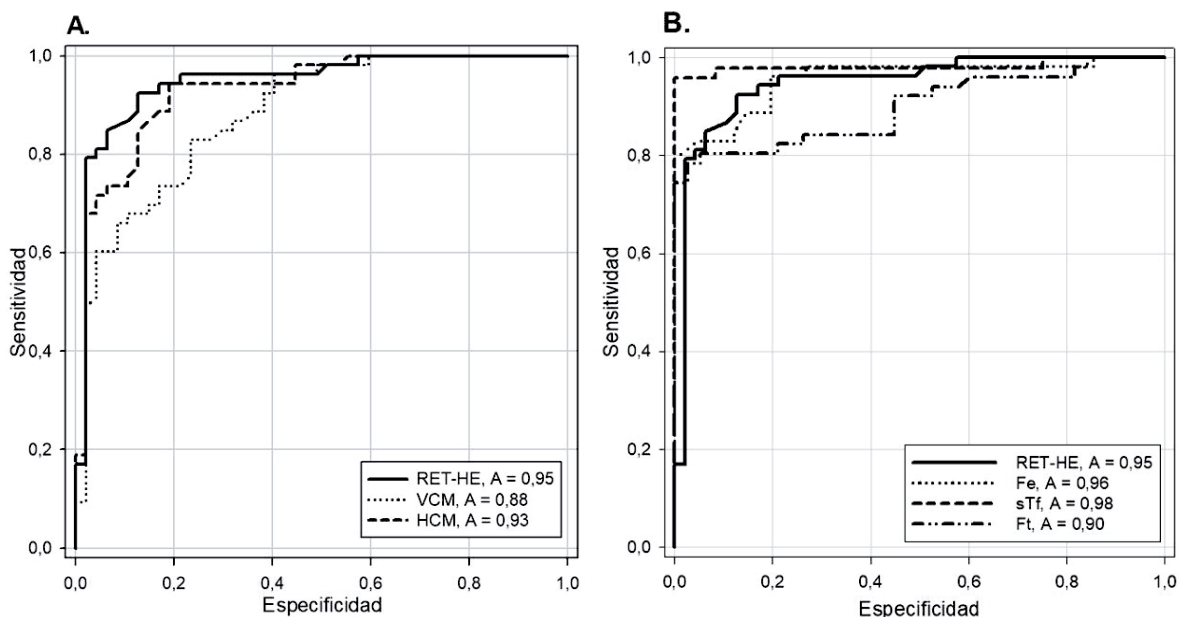


Figura 2. Análisis de curvas ROC para diagnóstico de deficiencia de hierro. A. Ret-He (equivalente de hemoglobina reticulocitaria), VCM (volumen corpuscular medio), HCM (hemoglobina corpuscular media). B. Ret-He, Fe (hierro), sTf (saturación de transferrina), Ft (ferritina). Déficit de hierro: Fe < 60 ug /dl y/o sTf $< 16\%$ y/o Ft < 15 ug/l. Déficit de hierro: Fe < 60 ug y/o sTf $< 16\%$ y/o Ft < 15 ug/L.

Tabla 3: Desempeño de parámetros ferrocínicos y de distintos valores de Ret-He para diagnóstico de déficit de hierro.

	S (%)	E (%)	VPN (%)	VPP (%)
VCM (<80fl)	61.1	91.5	61.2	89.5
Fe (<60ug)	83.3	92	81.5	93.6
sTf (<16%)	91.8	100	93.2	100
Ft (<15ul/l)	75	100	77.8	100
Ret-He<28pg	79.6	95.7	80.4	95.6
Ret-He<28.5pg	88.9	87.2	87.2	88.9
Ret-He<29.9pg	94.4	83	92.9	86.4

VCM: volumen corpuscular medio; Fe: hierro;

sTf: saturación de transferrina; Ft: ferritina;

Ret-He: equivalente de hemoglobina reticulocitaria;

E: especificidad; S: sensibilidad; VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo

dictivo negativo (VPN) para parámetros del perfil de hierro y diferentes puntos de corte de Ret-He se resumen en la Tabla 3.

Se evaluó la correlación entre sTf con Ft y entre Ret-He con sTf, VCM y Ft. La correlación del Ret-He con la sTf presentó el mejor resultado ($r^2: 0,739$), siendo superior a la del VCM ($r^2: 0,667$). No se observó buena correlación de la Ft con el Ret-He ni con la sTf ($r^2: 0,42$ y $r^2: 0,543$ respectivamente).

Por último, se realizó una comparación entre el Ret-He y la HCM por derivar ambos del hemograma y tener un desempeño similar. Se estudiaron las diferencias entre el límite inferior del RR (RRi) correspondiente de cada parámetro (RRi Ret-He: 28,6 y RRi HCM: 26,3) y cada determinación individual de Ret-He (Xi Ret-He) y de HCM (Xi HCM). Se compararon dichas diferencias en pacientes ferropénicos normocíticos y microcíticos (Figura 3). Si bien tanto el Ret-H como la HCM disminuyen, las diferencias observadas del Ret-He (RRi Ret-He - Xi Ret-He) son significativamente mayores que las de la HCM (RRi HCM - Xi HCM), lo que podría simplificar su interpretación en la práctica. En pacientes

F con AN ambos parámetros disminuyen en menor medida que en aquellos F con AMi, resultando aún más evidente el beneficio de contar con un parámetro que se diferencie claramente de su RR normal.

Discusión y conclusiones.

Los pacientes sin anemia y con anemia macrocítica, microcítica y normocítica presentan valores de Ret-He con diferencias estadísticamente significativas, encontrándose valores en AMi < AN < Sin-A < AMa. Los valores aumentados en AMa responden al mayor VCM y consecuente mayor contenido de hemoglobina, por lo que no son válidos los RR generales para pacientes con macrocitosis. El grupo AMi incluye pacientes con IDA, ACD y talasemia, todos grupos con valores de Ret-He disminuidos según otros autores^(8,10). Los pacientes con talasemia se excluyeron del trabajo, ya que por la limitación que presenta el Ret-He en esta población, el marcador no debería utilizarse para estudio de personas con hemoglobinopatías⁽⁹⁾. Los pacientes con AN presentaron valores significativamente disminuidos respecto a los Sin-A, si bien no se esperaba observar

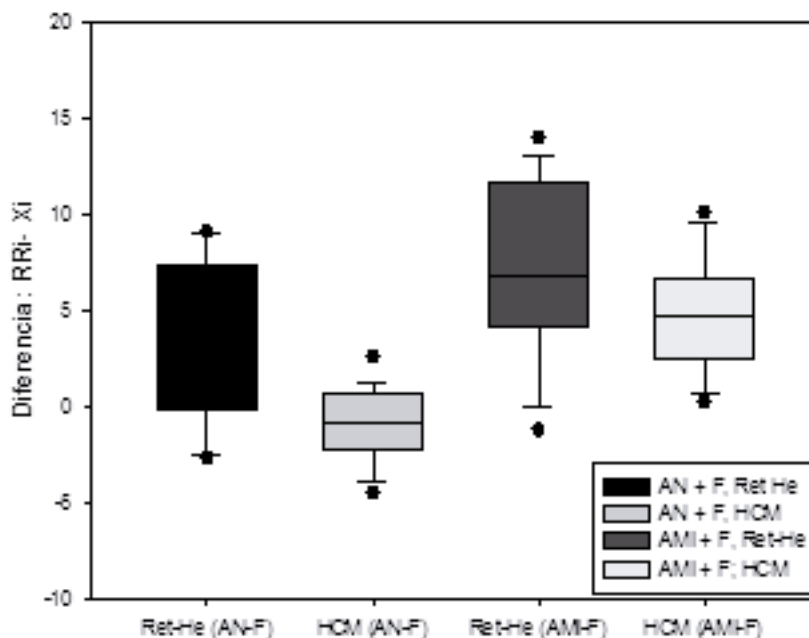


Figura 3. Gráfico de cajas mostrando las diferencias entre el valor inferior del rango de referencia (RRi) y los valores individuales (Xi) de Ret-He y HCM. Ret-He: equivalente de hemoglobina reticulocitaria; HCM: hemoglobina corpuscular media; AN-F: pacientes ferropénicos normocíticos; AMi-F: pacientes ferropénicos microcíticos. * $p(<0,05)$.

diferencias, ya que estas anemias no suelen deberse a ferropenia. Al subclasificarlos según el perfil de hierro en F y No-F, únicamente el primer grupo presentó valores de Ret-He significativamente menores que los Sin-A, avalando la utilidad de dicho parámetro para identificar pacientes normocíticos ferropénicos. Los valores de Ret-He en pacientes “Sin-A, “F” y “No-F” concuerdan con los reportados por otros autores⁽⁸⁾. Únicamente aquéllos con F presentaron valores de Ret-He significativamente disminuidos, evidenciando su utilidad para identificar eritropoyesis deficiente de hierro. La correlación entre Ret-He y sTf fue superior a la observada entre los otros parámetros. La falta de correlación de la Ft con Ret-He y sTf era de esperarse por ser reactante de fase aguda, resaltando la utilidad de contar con parámetros que no se modifiquen en procesos infecciosos e inflamatorios.

Los valores de AUC están en concordancia con los reportados por otros trabajos⁽⁷⁾, siendo el desempeño de la sTf levemente superior al Ret-He y ambos mejores que el de Ft, Fe y VCM. El comportamiento del Ret-He y la HCM fue similar, esperable ya que ambos parámetros estudian el contenido de Hb por célula pero en poblaciones diferentes; el Ret-He

evalúa Hb en reticulocitos y la HCM Hb en toda la serie eritroide. Si bien el rendimiento fue similar, se observaron mayores diferencias respecto del RRI para el Ret-He, lo que podría simplificar su interpretación clínica especialmente en pacientes normocíticos ferropénicos en los que la disminución de ambos parámetros mostró ser menor.

El punto de corte de 28,45 pg es, según nuestros resultados, el de mejor desempeño global para diagnóstico de F. Un valor de corte de 28 pg ha sido propuesto por Jark y col⁽⁵⁾ (S/E: 76/100%) y Toki y col⁽⁶⁾ (S/E: 68/90%) como el de mayor rendimiento, mientras que otros trabajos encontraron otros puntos de corte óptimos para detección de ferropenia^(1,3,7). Las diferencias pueden deberse en parte a los criterios empleados para la selección y clasificación de poblaciones, pero resaltan la importancia de realizar trabajos locales previos a la incorporación de nuevas determinaciones. Un valor de Ret-He <28,05 pg mostró una alta especificidad para déficit de hierro, por lo que valores menores son altamente indicativos de estados ferropénicos (VPP: 95,6). Por otro lado, un punto de corte de 29,9 pg podría resultar de gran utilidad como tamizaje de deficiencia de hierro por su alta sensibilidad y aceptable especificidad.

Valores de Ret-He >29,9 pg descartarían déficit de hierro (VPN: 92,9%).

Una limitación de este estudio es el uso de parámetros ferrocinéticos para definir F y No-F, en lugar de hierro medular, resultando en un rendimiento global sobrestimado para la sTf y Ft. Esta limitación afecta a la mayoría de los trabajos reportados en la bibliografía. Por otro lado, si bien la especificidad obtenida del Ret-He se encuentra sobrestimada por la exclusión de pacientes con talasemia, resalta la importancia del análisis de los resultados de laboratorio considerando siempre el contexto clínico del paciente. Resulta fundamental el conocimiento de transfusiones recientes, tratamiento con hierro, deficiencia concomitante de B12 o folato y presencia de hemoglobinopatía para la co-

recta interpretación.

Nuestros resultados indican que el Ret-He tiene utilidad clínica para descartar estados ferropénicos y para orientar al diagnóstico de anemia ferropénica. Debe utilizarse siempre como una herramienta auxiliar, complementaria a los parámetros ferrocinéticos que constituyen las pruebas confirmatorias de déficit de hierro. Su implementación en la práctica diaria, a partir del hemograma y previa a otros parámetros del perfil de hierro, podría ser de utilidad, ya que da información rápida de las reservas de hierro y de la hemoglobinización en las últimas 48-72 horas. Son necesarios nuevos trabajos que evalúen su utilidad en poblaciones con estados inflamatorios crónicos y para monitoreo del tratamiento con hierro, especialmente vía oral.

Conflictos de interés: Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

References

1. Piva E, Brugnara C, Spolaore F, Plebani M. Clinical Utility of Reticulocyte Parameters. *Clin Lab Med*. 2015; 35:133-163.
2. Thomas L, Franck S, Messinger M, Linssen J, Thome M, Thomas C. Reticulocyte hemoglobin measurement - comparison of two methods in the diagnosis of iron-restricted erythropoiesis. *Clin Chem Lab Med*. 2005; 43:1193-1202.
3. Buttarello M, Pajola R, Novello E, Mezzapelle G, Plebaniet M. Evaluation of the hypochromic erythrocyte and reticulocyte hemoglobin content provided by the Sysmex XE-5000 analyzer in diagnosis of iron deficiency erythropoiesis. *Clin Chem Lab Med* 2016; 54:1939-1945.
4. Camargo Morkis IV, Granero Farias M, Scotti L. Determination of reference ranges for immature platelet and reticulocyte fractions and reticulocyte hemoglobin equivalent. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2016; 38:310-313.
5. Jarc E, Preložnik Zupan I, Buturović Ponikvar J, Snoj N, Podgornik H. Comparison of erythrocyte and reticulocyte indices for the diagnosis of iron deficiency. *Zdrav Vestn*. 2017; 86:19-27.
6. Toki Y, Ikuta K, Kawahara Y y col. Reticulocyte hemoglobin equivalent as a potential marker for diagnosis of iron deficiency. *Int J Hematol*. 2017; 106:116-125.
7. Mehta S, Goyal LK, Kaushik D y col. Reticulocyte Hemoglobin vis-a-vis Serum Ferritin as a Marker of Bone Marrow Iron Store in Iron Deficiency Anemia. *J Assoc Physicians India*. 2016; 64:38-42.
8. Canals C, Remacha AF, Sardá MP, Piazuelo JM, Royo MT, Romero MA. Clinical utility of the new SysmexXE2100 parameter -reticulocyte hemoglobin equivalent- in the diagnosis of anemia. *Haematologica*. 2005; 90:1133-1134.
9. Schoorl M, Schoorl M, Linssen J y col. Efficacy of Advanced Discriminating Algorithms for Screening on Iron-Deficiency Anemia and β -Thalassemia Trait. *Am J ClinPathol*. 2012; 138:300-304.
10. Barbosa Torino AB, Pererira Gilberti MF, Da Costa E, Freire de Lima GA, Zerlotti Wolf Grotto H. Evaluation of erythrocyte and reticulocyte parameters as

- indicative of iron deficiency in patients with anemia of chronic disease. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2015; 37:77-81.
11. Peerschke EIB, Pessin MS, Maslak P. Using the hemoglobin content of reticulocytes (RET-HE) to evaluate anemia in patients with cancer. *Am J Clin Pathol.* 2014; 142:506-512.
 12. Reinisch W, Staun M, Bhandari S, Muñoz M. State of the iron: How to diagnose and efficiently treat iron deficiency anemia in inflammatory bowel disease. *Journal of Crohn's and Colitis.* 2013; 7:429-440.
 13. Fishbane S, Shapiro W, Dutka P, Valenzuela OF, Faubert J. A randomized trial of iron deficiency testing strategies in hemodialysis patients. *Kidney International.* 2001; 60:2406-2411.
 14. Eckhardt AA, Freiberg MA, de la Fuente JBC, Douthat WBC, Capra RA. Utilidad clínica de la hemoglobina reticulocitaria equivalente en pacientes en hemodiálisis crónica. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas.* 2011; 68:51-55.
 15. Miwa N, Akiba T, Kimata N y col. Usefulness of measuring reticulocyte hemoglobin equivalent in the management of haemodialysis patients with iron deficiency. *Int Jnl Lab Hem.* 2010; 32:248-255.
 16. National Institute for Health and Clinical Excellence. *Anaemia Management in Chronic Kidney Disease.* Londres, National Institute for Health and Clinical Excellence; 2015.
 17. Hayes W. Measurement of iron status in chronic kidney disease. *Pediatric Nephrology.* 2019; 34:605-613.
 18. Brugnara C, Laufer MR, Friedman AJ. Reticulocyte hemoglobin content (CHR): early indicator of iron deficiency and response to therapy. [LETTER]. *Blood.* 1994 83: 3100-3101.
 19. Ullrich C, Wu A, Armsby C y col. Screening healthy infants for iron deficiency using reticulocyte hemoglobin content. *JAMA.* 2005; 294:924-90.
 20. Bakr AF, Sarette G. Measurement of reticulocyte hemoglobin content to diagnose iron deficiency in Saudi children. *Eur J Pediatr.* 2006; 165:442-445.
 21. Organización Mundial de la Salud. *Concentraciones de hemoglobina para diagnosticar la anemia y evaluar su gravedad.* Ginebra, Organización Mundial de la Salud; 2011.
 22. Sociedad Argentina de Hematología. *Guías de Diagnóstico y Tratamiento;* 2019.



Atribución – No Comercial – Compartir Igual (by-nc-sa): No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original. Esta licencia no es una licencia libre.

Profilaxis secundaria con rFVIII Fc en adultos jóvenes con hemofilia A severa

Secondary prophylaxis with rFVIII Fc in young adults with severe haemophilia A

Neme D; Elhelou L; Cocca A; Primiani L

Fundación de la Hemofilia. Buenos Aires, Argentina

dneme@hemofilia.org.ar

Fecha recepción: 12/11/2019

Fecha aprobación: 03/4/2020



ARTICULO
ORIGINAL

HEMATOLOGÍA

Volumen 24 N° 1: 49-53

Enero - Abril 2020

Palabras claves: profilaxis, hemofilia, rFVIII Fc, adultos jóvenes, tasa de sangrado.

Keywords: prophylaxis, haemophilia, rFVIII Fc, young adults, bleeding rate.

Resumen

Introducción

La profilaxis secundaria en adultos con hemofilia severa no resuelve la artropatía establecida, pero puede reducir el número de hemorragias articulares. Los productos de vida media extendida permiten infusiones menos frecuentes.

Objetivo

En este estudio prospectivo, evaluamos la eficacia de la profilaxis con FVIII recombinante asociado a proteína de fusión (rFVIII Fc) en un grupo de pacientes adultos jóvenes.

Métodos

Pacientes mayores de 18 años de un solo centro fueron tratados con rFVIII Fc 20-40 UI/kg dos veces por semana, durante un período de 6 meses. Analizamos la tasa de hemorragia y la comparamos con el período pre-profilaxis (tratamiento a demanda de eventos hemorrágicos).

Resultados

24 pacientes recibieron una dosis media de rFVIII Fc 32,1 UI/kg dos veces por semana. Hubo 58 hemorragias menores, todas tratadas con 1-2 dosis diaria de rFVIII Fc. La tasa de hemorragia anualizada promedio fue de 15,3 en el período pre-profilaxis frente a 2,4 durante la profilaxis. No se detectaron inhibidores.

Conclusión

rFVIII Fc fue bien tolerado en pacientes adultos jóvenes con hemofilia A severa, y resultó en una tasa de hemorragia anualizada baja cuando se administró 2 veces por semana como tratamiento profiláctico secundario.

Abstract

Introduction

Secondary prophylaxis in adults with severe haemophilia will not resolve the established arthropathy but may reduce the number of joint bleeds. Extend-

ed half-life products permit less frequent infusions.

Aim

In this prospective study, we evaluated the efficacy of prophylaxis with recombinant FVIII Fc fusion protein (rFVIII Fc) in a group of young adult patients.

Methods

Patients older than 18 years old from a single center were treated with rFVIII Fc 20-40 IU kg⁻¹ twice a week, during a period of 6 months. We analyzed the annualized bleeding rate and compared it with the pre-prophylaxis period (on demand treatment).

Results

24 patients received a mean dose of rFVIII Fc 32.1 kg⁻¹ twice a week. There were 58 minor bleedings, all treated with 1-2 daily dose of rFVIII Fc. The mean annualized bleeding rate was 15.3 in the pre-prophylaxis period vs. 2.4 during prophylaxis. No inhibitors were detected.

Conclusion

rFVIII Fc was well-tolerated in young adult patients with severe hemophilia A, and resulted in low bleeding rate when dosed 2 times per week as a secondary prophylactic treatment.

Introduction

Prophylaxis involves regular infusions of coagulation factor concentrates two to three times per week. Primary prophylaxis is most commonly initiated before or soon after the first joint bleeding episode, usually when the patient is at the most 2 years old. Secondary prophylaxis is prophylaxis started after some degree of haemophilic arthropathy has already developed; its objectives are, therefore, more limited than primary prophylaxis, as established arthropathy will not resolve and may continue to deteriorate even in the absence of further joint bleeding. Thus, the objectives of secondary prophylaxis usually are to arrest or reduce the progression of arthropathy, decrease synovitis, permit physiotherapy and increased physical activity, reduce pain, improve quality of life and/or defer the need for surgical intervention⁽¹⁾.

Optimal prophylaxis with conventional FVIII products, which have half-lives of approximately 12 hours, often requires three to four intravenous infu-

sions weekly; more frequent administration may be necessary in children, who generally have a shorter FVIII half-life compared with adults. Recombinant FVIII Fc fusion protein (rFVIII Fc) was developed to prolong the half-life of FVIII⁽²⁾. rFVIII Fc consists of a BDD-rFVIII molecule that is genetically fused to the Fc domain of human immunoglobulin G1 with no intervening linker sequence. rFVIII Fc is produced in human embryonic kidney cells (HEK293) to provide human glycosylation patterns and high expression levels, with no added human- or animal-derived materials. The Fc domain provides protection from degradation through an endogenous pathway, mediated by the neonatal Fc receptor, resulting in prolonged half-life of the clotting factor. In a phase 1/2a human clinical study, rFVIII Fc had a 1.5- to 1.7-fold increase in plasma half-life compared with full-length rFVIII.

The specific activity of rFVIII Fc is equivalent to that of native FVIII (on a molar basis) and the clotting and chromogenic substrate assays demonstrated similar results. Despite the methodological variables that have been observed in laboratory assays, post infusion plasma rFVIII Fc levels can be monitored in patients by either the one-stage or chromogenic substrate assays routinely performed in clinical coagulation laboratories⁽³⁾. Mahlangu et al. reported in a trial with males aged ≥ 12 years with severe haemophilia A treated with rFVIII Fc, that the annualized bleeding rate was significantly reduced with prophylaxis (25-65 IU kg⁻¹ every 3-5 days) by 92% compared with episodic treatment⁽⁴⁾. The lower clearance as compared to conventional rFVIII gives rFVIII Fc the potential for improved efficacy with regard to bleed prevention, without increasing the overall factor consumption⁽⁵⁾.

The primary objective of this study was to evaluate the efficacy of prophylaxis in a group of young adult patients treated with an extended half-life FVIII (rFVIII Fc) to prevent bleeding episodes, as assessed by an intraindividual comparison of the annualized bleeding rate (ABR) during prophylaxis with the ABR during the previous on-demand treatment period. The second objective of the study was to evaluate the safety of rFVIII Fc, as assessed by the occurrence of inhibitors against FVIII in all patients.

Materials and methods

Patients older than 18 years old with severe haemophilia A (FVIII <1 IU dL⁻¹) followed in our center, who were on demand treatment, with at least 150 exposure days (ED) with previous FVIII replacement products, and no detectable inhibitor to FVIII, were invited to participate in this prospective trial. All the patients were treated with rFVIIIc 20-40 IU kg⁻¹ twice a week, during a period of 6 months. The first infusion had to be administered in our center and then they continued with self-administration at home. While on prophylaxis in the study, they had to be involved in an intensive physical rehabilitation program that included swimming activities. Pharmacokinetic studies were performed to measure the plasma FVIII levels (one stage method) at 10 minutes, 24, 72 and 96 hours of post infusion samples. Inhibitor test (Nijmegen-modified Bethesda assay) was performed at 0, 3 and 6 months, in all patients. All bleeding episodes were treated with rFVIIIc at doses between 20-40 IU kg⁻¹. Any patient requiring surgery during the course of the study could use rFVIIIc. Patients were encouraged to contact our Haematological Service if there was any concern. Detailed data on all patients and treatment history were collected from medical records.

The institutional review board approved the protocol, and the study was conducted in accordance with the Guidelines for Good Clinical Practice and the ethical principles outlined in the Declaration of Helsinki. All patients signed a written informed consent.

Results

Twenty five patients with severe haemophilia A were enrolled in the study, with a mean age of 24.7 years old (range 19-33). One patient reported a mild chest pain after the infusion of the eighth dose of rFVIIIc. There were no changes in the clinical, laboratory or imaging parameters evaluated. This patient decided to withdraw from the study. As the same symptom was reported in later opportunities (after stopping rFVIIIc), it was finally considered an adverse event not related to the study drug.

The assessable population was 24 patients who completed the six-month prophylaxis period. All patients had a history of haemophilic arthropathy. Seven patients had ≤ 3 target joints and seventeen (70%) had more than 3. Only 11 patients had been on a late secondary prophylaxis before 18 years

old. The mean patient's weight was 72.8 kg and the mean prophylactic dose of rFVIIIc was 32.1 IU kg⁻¹ (range 25-39), twice a week.

The mean in vivo recovery of FVIII level (after 10 min post infusion) was 57 IU dL⁻¹ (1.7). At 24 hours post infusion, mean FVIII level was 15.6 IU dL⁻¹, in 20 patients evaluated. 17/19 (89.4%) and 14/24 (58.3%) patients had trough levels of FVIII ≥ 1 IU dL⁻¹ at 72 and 96 hours respectively. The mean ABR and annualized joint bleeding rate (AJBR) was 2.4 and 1.6 during prophylaxis versus 15.3 and 14 respectively (P<0.0001), in the pre-prophylaxis period (Figure 1). There were 369 bleedings in the pre-prophylaxis period vs 58 minor bleedings (40 were haemarthrosis and the rest were mouth and nose bleeding episodes), all treated with 1-2 daily dose of rFVIIIc, in the prophylaxis period. Seven patients had zero joint bleeding during prophylaxis. Twelve patients underwent minor programmed surgeries: 5 dental extractions and in 7 patients, autologous platelet rich plasma was injected in one affected joint (with chronic synovitis). In all procedures, a previous bolus dose of rFVIIIc to reach FVIII levels over 50 IU dL⁻¹ was administered, followed by a daily dose of rFVIIIc to reach FVIII levels over 30 IU dL⁻¹, for one or two days. There were no bleeding complications associated with these procedures. No major bleedings were reported during the study period. All patients achieved ≥50 ED with the study drug. No inhibitors were detected at 0, 3 or 6 month-evaluations. The adherence was evaluated as excellent in 23 patients. The patients performed regular physical activity and they reported a marked improvement in chronic joint pain, and an increase in muscle strength and self-confidence.

Discussion

Patients who begin secondary prophylaxis in adulthood may derive some benefit despite haemophilic arthropathy having established at that stage. Fischer et al. described patients who started prophylaxis after age 17 that were examined on the basis of the duration of prophylaxis: short (median 2.5 years) or long (median 20.3 years). The median number of bleeds after starting prophylaxis decreased by more than 50% in both groups. Long-term secondary prophylaxis does not prevent the progression of haemophilic arthropathy, but may modestly slow the rate of progression⁽⁶⁾.

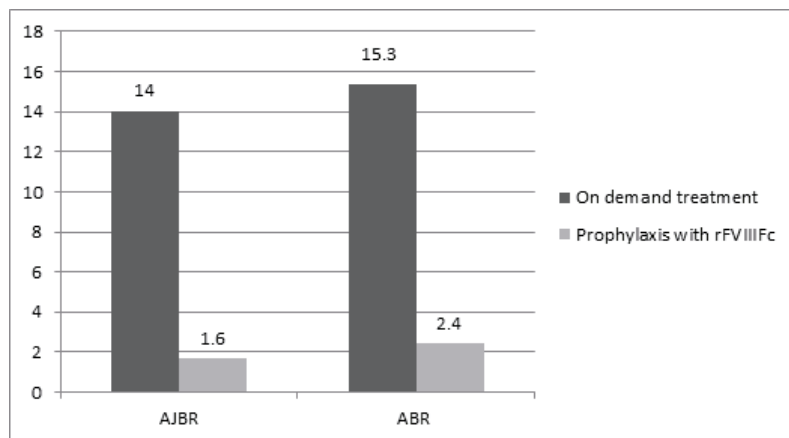


Figure 1. Mean AJBR and ABR in the pre-prophylaxis period vs. during prophylaxis with rFVIII Fc.

A survey organized by patients' groups in Europe examined the use of prophylaxis in people aged 20–35 with severe haemophilia and found an inverse correlation between time on prophylaxis and occurrence of major bleeds, presence of target joints and time off work. As expected, patients from Sweden who had spent the longest period on prophylaxis had the best preserved joints and best quality of life⁽⁷⁾. Berntorp et al reported that more than 60% of patients between 20 and 40 years old were on regular prophylaxis in many European centers⁽⁸⁾.

In our study, a significantly low ABR and AJBR during prophylaxis was achieved with an intermediate dose of rFVIII Fc in a fixed twice-weekly scheme. Although all the patients had several target joints and only 58.3% had FVIII levels ≥ 1 IU dL⁻¹ at all times, all patients had a marked decrease in bleeding. Björkman et al. had reported that some patients did not bleed in spite of a trough level of <1 IU dL⁻¹ and others did in spite of trough levels >3 IU dL⁻¹⁽⁹⁾. No inhibitor development was detected in our study population of previously treated patients with the use of rFVIII Fc. Prophylaxis also allowed the patients to perform physical activities on a regular basis, avoiding the fear of bleeding and favoring the indisputable benefits of exercising.

The limitation of this study is that it does not compare different doses/frequency of prophylaxis nor the results of rFVIII Fc vs. conventional FVIII products. We can conclude that rFVIII Fc was well tolerated, safe and efficacious in the prevention and treatment of bleeding in young adults with severe haemophilia A. Patients with twice weekly prophylaxis experienced clinically meaningful reductions in bleeding compared with episodic treatment.

Even when the cost was not analyzed in this study, Fischer et al. suggested that conservative prophylaxis yields significant benefits over intensive on-demand treatment, even when annual factor consumption rates are similar, in adult patients⁽¹⁰⁾. Coppola et al. also reported that late prophylaxis vs. on-demand therapy results in a cost-effective approach in adolescents and adults with severe haemophilia A⁽¹¹⁾. Iorio et al. in a literature review concluded that prophylaxis with rFVIII Fc may be associated with improved bleeding rates and lower weekly factor consumption than more frequently injected rFVIII products⁽¹²⁾.

Finally, as Makris stated⁽¹³⁾, we also consider that for the majority of patients with severe haemophilia, prophylactic treatment for life should be the standard of care.

Acknowledgements

The authors thank the World Federation of Hemophilia Humanitarian Aid Program for the donation of the concentrates used in this trial, and C Turbel for helping in the redaction of the article.

Disclosures

The authors stated that they had no interests which might be perceived as posing a conflict or bias.

Authorship contributions

ND and EL designed the study, collected and analyzed the data, and wrote the manuscript. ND, EL and CA performed the performed the follow up of the patients. PL was in charge of all the laboratory tests. All the authors read and approved the manuscript for submission/publication.

Conflictos de interés: Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

References

- Hay C. Prophylaxis in adults with haemophilia. *Haemophilia*. 2007; **13** (Suppl. 2): 10-15.
- Nolan B, Mahlangu J, Perry D y col. Long-term safety and efficacy of recombinant factor VIII Fc fusion protein (rFVIII Fc) in subjects with haemophilia A. *Haemophilia*. 2016; **22**: 72-80.
- Sommer J, Moore N, McGuffie-Valentine B y col. Comparative field study evaluating the activity of recombinant factor VIII Fc fusion protein in plasma samples at clinical haemostasis laboratories. *Haemophilia*. 2014; **20**: 294-300.
- Mahlangu J, Powell J, Ragni M y col. Phase 3 study of recombinant factor VIII Fc fusion protein in severe hemophilia A. *Blood*. 2014; **123** (3): 317-325.
- Berntorp E, Negrier C, Gozzi P y col. Dosing regimens, FVIII levels and estimated haemostatic protection with special focus on rFVIII Fc. *Haemophilia*. 2016; **22**: 389-396.
- Fischer K, van Dijk K, van den Berg M. Results of prophylaxis started in adulthood. *Haemophilia*. 2006; **10**: 113-16.
- Noone D, O'Mahony B, Prihodova L. A survey of the outcome of prophylaxis, on-demand or combined treatment in 20–35 year old men with severe haemophilia in four European countries. *Haemophilia*. 2011; **17**: e842-3.
- Berntorp E, Dolan G, Hay C y col. European retrospective study of real-life haemophilia treatment. *Haemophilia*. 2017; **23**: 105-114.
- Björkman S. Prophylactic dosing of factor VIII and factor IX from a clinical pharmacokinetic perspective. *Haemophilia*. 2003; **9** (Suppl. 1): 101-10.
- Fischer K, van der Bom JG, Molho P et al. Prophylactic vs. on-demand treatment strategies for severe haemophilia: a comparison of costs and long-term outcome. *Haemophilia*. 2002; **8**: 745-52.
- Coppola A, D'Ausilio A, Aiello A y col; Potter Study Group. Cost-effectiveness analysis of late prophylaxis vs. on-demand treatment for severe haemophilia A in Italy. *Haemophilia*. 2017; **23**: 422-429.
- Iorio A, Krishnan S, Mirén K y col. Indirect comparisons of efficacy and weekly factor consumption during continuous prophylaxis with recombinant factor VIII Fc fusion protein and conventional recombinant factor VIII products. *Haemophilia*. 2017; **23**: 408-416.
- Makris M. Prophylaxis in haemophilia should be lifelong. *Blood Transfus*. 2012; **10** (2): 165-168.



Atribución – No Comercial – Compartir Igual (by-nc-sa): No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original. Esta licencia no es una licencia libre.

Recomendaciones para el descarte de productos de CPH/linfocitos criopreservados: consenso del Grupo Argentino de Trasplante de Médula Ósea (GATMO)

Disposal of cryopreserved hematopoietic stem cells products: a consensus report from the Argentinian Group of Bone Marrow Transplantation (GATMO)

Basquiera AL¹, Tisi Baña F¹, Ferini GA¹, Makiya ML¹, Burgos Pratz L¹, Milovic V², Jaimovich G⁴, García JJ³, Arbelbide JA¹, Abichain P³
y miembros del GATMO

¹Hospital Italiano de Buenos Aires. Instituto Universitario Hospital Italiano de Buenos Aires.

²Hospital Alemán

³Hospital Privado Universitario de Córdoba

⁴Fundación Favaloro

ana.basquiera@hospitalitaliano.org.ar

Fecha recepción: 19/11/2019

Fecha aprobación: 31/3/2020



ARTÍCULO
DE REVISIÓN

HEMATOLOGÍA
Volumen 24 N° 1: 54-58
Enero - Abril 2020

Palabras claves: células progenitoras hematopoyéticas, descarte, criopreservación.

Keywords: hematopoietic stem cells, disposal, cryopreservation.

Introducción

El procedimiento de criopreservación y almacenamiento (CyA) de las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) es requerido con frecuencia para la realización de un trasplante de CPH autólogo y en algunas ocasiones se requiere la CyA de productos celulares alogénicos (CPH o linfocitos). El almacenamiento de estos productos celulares tiene una validez definida por el medio en el que se almacena, la utilidad clínica del producto y las condiciones de seguridad del producto que fue almacenado⁽¹⁾. El descarte de estos productos almacenados tiene no sólo consideraciones técnicas sino también éticas derivadas del potencial terapéutico de estas células

y de la información genética contenida en ellos⁽²⁾.

La CyA de productos autólogos para trasplante es un problema para muchos países, ya que conlleva un costo y utilización de recursos muy alta⁽³⁾. Los estándares FACT-JACIE dejan a consideración de los centros el tiempo de CyA⁽⁴⁾. En la experiencia francesa, se utilizan menos del 1% de los productos autólogos CyA más de allá de 5 años⁽⁵⁾. Estos autores establecen entonces que, superado los 5 años de CyA de estos productos, la decisión de continuar dicha conservación será evaluada por el equipo médico a cargo (ver punto 4.4.3 de la guía del SFGM-TC)⁽⁵⁾. Por otro lado, para productos CyA en nitró-

geno, si bien hay reportes de criopreservación por más de 10 años, son casos aislados⁽⁶⁾. Para aquellos productos CyA en *freezer* mecánico, la experiencia con este método y el tiempo de CyA informado en la literatura es variable⁽⁷⁾.

Se debería considerar la criopreservación de un producto alogénico cuando se prevé que el donante no va a estar disponible para infusiones de linfocitos en el caso de ser necesario o en el caso de productos no relacionados con exceso de células colectadas. Otra circunstancia de criopreservación de un producto alogénico es la necesidad de realizar tal procedimiento antes del inicio del acondicionamiento (ej. disponibilidad del donante). Dado que el producto alogénico podría ser descartado en caso de que se obtenga más producto del necesario y que un donante alogénico tiene un potencial de disponibilidad para futuras donaciones de linfocitos, no hay tiempos sugeridos para dichos productos. Finalmente, datos publicados muestran que prácticamente no se utilizan productos alogénicos más allá de 238 días de almacenamiento⁽⁸⁾.

Por lo anteriormente mencionado, resulta fundamental entonces establecer pautas para descartar dichos productos, que tienen que ser informadas al donante previo al procedimiento de CyA.

El objetivo del presente documento es establecer recomendaciones para el descarte de productos celulares criopreservados en el contexto del trasplante de CPH, ya sea autólogo o alogénico, que serán adaptadas a la modalidad de criopreservación de cada institución y considerarán regulaciones nacionales vigentes y normativas bioéticas.

Para el desarrollo de la presente guía se revisó la literatura internacional disponible sobre el tema y las normativas nacionales vigentes sobre productos biológicos y CPH, investigación en seres humanos, derechos de los pacientes y ley de protección de datos personales⁽⁹⁻¹⁶⁾.

Consideraciones del producto de terapia celular

Los productos celulares CyA considerados en el presente documento tienen como finalidad ser utilizados para un paciente en particular, en el contexto del procedimiento de trasplante de CPH autólogo o alogénico según corresponda. Por tal motivo, todas las consideraciones clínicas y de laboratorio sobre la utilidad de productos de CPH CyA están dirigidas al paciente para el cual dicho producto fue colecta-

do⁽¹⁾. Bajo ninguna circunstancia el producto CyA debe ser utilizado para otro paciente.

Criterios de validez del producto celular CyA por método de almacenamiento

Actualmente hay dos métodos disponibles de almacenamiento de productos criopreservados: en nitrógeno líquido, sea en la fase líquida o en la fase gaseosa, o en un congelador mecánico a temperatura menor a -70°C.

Criterios de utilidad clínica del producto celular CyA

Un producto celular obtenido para trasplante autólogo de CPH y CyA tendrá utilidad clínica para el paciente para el cual fue colectado si:

- El paciente mantiene los criterios de elegibilidad para trasplante de acuerdo a lo estipulado por cada equipo clínico de trasplante: edad, comorbilidades, estado de la enfermedad de base, etc.
- El paciente no ha fallecido.
- El producto tiene una celularidad apropiada para trasplante.

Un producto de CPH y/o linfocitos obtenido para trasplante alogénico de CPH de un donante alogénico y CyA tendrá utilidad clínica para el receptor para el cual fue colectado si:

- El trasplante no alcanzó el año desde la fecha de almacenamiento pudiendo ser de utilidad para terapia inmunológica o ante pérdida del injerto.

Criterios de seguridad del almacenamiento

Se considerará que la seguridad del producto celular CyA podrá verse afectada en caso de:

- Contaminación bacteriana: en el caso de que los cultivos obtenidos al momento de la criopreservación resultaran positivos, los equipos clínicos y Elaborador de Productos Celulares (EPC) determinarán la necesidad de descarte de dichos productos de acuerdo al tipo de germen, políticas infectológicas locales, etc., y habiendo procurado obtener otro producto.
- Otras situaciones que puedan afectar la seguridad del producto, como daño irreversible, descongelación accidental, fallo en la identificación, etc. Dichas situaciones serán detalladas por cada institución de acuerdo a la modalidad y procedimiento local de CyA.

Utilidad del producto a descartar para control de calidad y/o investigación

En algunas circunstancias un producto celular de CPH o linfocitos que va a ser descartado puede brindar información sobre calidad del procedimiento o podría servir para investigación éticamente aprobada. Esta situación podrá ser contemplada previo al descarte, pero deberá haber sido consentida por el donante ya sea autólogo o alogénico.

Consideraciones éticas

Generalidades

En el desarrollo de las recomendaciones para el descarte se han tenido en cuenta principios bioéticos de autonomía, beneficencia y justicia. Se le explicará al donante (autólogo o alogénico) las situaciones por las cuales el producto puede ser descartado y estas condiciones serán resumidas en el consentimiento informado que firmará previo a la colecta de CPH/linfocitos. La utilidad terapéutica del producto CyA será la principal consideración al momento de considerar el descarte del producto, por tal motivo, independiente de la toma del consentimiento informado, se recomienda que los equipos EPC y clínico de trasplante evalúen la situación conjuntamente previo al descarte del producto, para verificar la utilidad clínica del mismo. Previo a la destrucción de una muestra biológica puede considerarse su uso si la misma pudiera contribuir al beneficio del progreso científico en términos de mejora de calidad o investigación éticamente aprobada; dicha consideración deberá quedar establecida en el consentimiento que el paciente firmará previo a la colecta de CPH/linfocitos y será opcional⁽¹⁾.

Consentimiento Informado

El donante autólogo o alogénico, o su tutor cuando correspondiere, dará su consentimiento para un potencial descarte.

Dicho consentimiento establecerá:

- *Que el producto CyA sólo será utilizado para el paciente para el cual fue colectado y sólo en contexto del trasplante de CPH o necesidad de inmunoterapia posterior al trasplante de CPH en el caso del alogénico.*
- *Que el producto autólogo podrá ser descartado en las siguientes situaciones:*
 - Pasado los 5 años para productos CyA en nitrógeno.

- Pasado los 2 años para productos CyA en freezer.
- Cuando el equipo de clínico de trasplante tenga la certeza de fallecimiento del paciente o el equipo EPC obtenga la información de otras fuentes fehacientes.
- Cuando el equipo clínico de trasplante haya definido la no elegibilidad irreversible para trasplante.
- Cuando el equipo clínico de trasplante defina que el producto CyA tiene una celularidad insuficiente para ser utilizada y la continuidad de su almacenamiento no otorgará beneficio alguno al paciente.
- Cuando el equipo del EPC considere que las condiciones de almacenamiento y/o identificación del producto pudieran poner en riesgo la seguridad del producto.
- Cuando el donante autólogo retire el consentimiento para CyA.
- *Que el producto alogénico podrá ser descartado en las siguientes situaciones clínicas:*
 - Luego de un año de transcurrido el trasplante alogénico para el cual el producto fue colectado y se haya documentado reconstitución hematológica sostenida.
 - Cuando el equipo de trasplante tenga la certeza de fallecimiento del paciente.
- *Que una vez decidido el descarte, el producto a descartar podrá ser utilizado para fines de control de calidad y/o investigación éticamente aprobada siempre y cuando el donante haya dado su consentimiento y bajo la normativa de protección de datos personales vigente.*

Implementación del procedimiento en cada institución

En base al presente documento, cada institución deberá establecer el procedimiento más apropiado de acuerdo a la política local de calidad establecida. Dicho procedimiento deberá considerar que:

- El consentimiento para CyA se tomará previo a iniciar la colecta de CPH.
- El descarte de material CyA que se encuentre contemplado en alguna de las situaciones anteriormente mencionadas requerirá la anuencia tanto del equipo clínico como del equipo de EPC. En el caso del descarte por validez, el equipo del EPC informará al equipo clínico de trasplante y

el descarte se realizará luego de la anuencia de este último. En las demás situaciones, el procedimiento sucederá a la inversa. Cada institución establecerá la mejor forma de implementar dicha comunicación.

- En caso de que el donante retire el consentimiento para CyA deberá firmar un documento donde se deja constancia de esta situación, que servirá como justificativo para el descarte.

Productos de CPH CyA previo al desarrollo de la presente política

- En el caso de productos de CPH destinados a trasplante CyA previo a la implementación de la presente guía y que fueron almacenados por lar-

gos períodos de tiempo, si no se dispone de consentimiento informado y el donante no puede ser contactado, el producto podrá ser descartado de acuerdo a los procedimientos de descarte de material biológico de cada institución⁽¹⁾.

Conclusiones

La práctica de CyA de productos de CPH a largo plazo lleva a considerables costos⁽¹⁷⁾ y espacio para el almacenamiento. Es conocido que la mayoría de los productos almacenados por tiempo prolongado no se utilizarán, por lo que establecer una política homogénea en nuestro país es fundamental. La implementación de la misma a nivel institucional deberá adaptarse a los requerimientos locales.

Conflictos de interés: los autores declaran no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

1. Petrini C. An ethical framework for the disposal of autologous stem cells. *Drug Metabol Drug Interact.* 2013;28:5-12.
2. Brand A, Lal JA. European best practice guidelines for quality assurance, provision and use of genome-based information and technologies: the 2012 declaration of Rome. *Drug Metab Drug Interact* 2012;27:177-82.
3. Perseghin P, Marchetti M, Pierelli L et al; Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo; Centro Nazionale Trapianti. A policy for the disposal of autologous hematopoietic progenitor cells: report from an Italian consensus panel. *Transfusion.* 2014;54:2353-60.
4. <http://www.jacie.org/7th-edition>. Acceso 20 de mayo de 2018.
5. Calmes B, Boulanger F, Baudaux E et al. Modalite's de conservation et de destruction des produits cellulaires cryopréservés: recommandations de la SF-GM-TC. *Pathologie Biologie.* 2014;62: 221-225.
6. Donnenberg AD, Koch EK, Griffin DL et al. Viability of cryopreserved BM progenitor cells stored for more than a decade. *Cytotherapy.* 2002;4:157-163.
7. Detry G, Calvet L, Straetmans N et al. Impact of uncontrolled freezing and long-term storage of peripheral blood stem cells at -80 °C on haematopoietic recovery after autologous transplantation. Report from two centres. *Bone Marrow Transplantation.* 2014;49, 780-5.
8. Kim HD, Jamal N, Saragosa R et al. Similar Outcomes of Cryopreserved Allogeneic Peripheral Stem Cell Transplants (PBSCT) Compared to Fresh Allografts. *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* 2007;13:1233-43.
9. Ley 25.326 referente a la Protección de Datos Personales. Disponible en http://www.jus.gob.ar/media/33481/ley_25326.pdf. Acceso 04 de septiembre de 2017.
10. Ley 26529 de Derechos de los pacientes en relación con los profesionales e instituciones de salud y su modificatoria Ley 26742. Disponible en <http://www.legisla.gov.ar/atlas/categorias/derechos.html>. Acceso 04 de septiembre de 2017.
11. Resolución INCUCAI 119/2012. NORMAS PARA LAS BUENAS PRÁCTICAS DE ELABORACIÓN Y LABORATORIO PARA PREPARACIONES CELULARES. Disponible en http://www.incucai.gov.ar/files/docs-incucai/Legislacion/03-ResIncucai/Normativas-de-CPH/03-res_incucai_119_12.pdf. Acceso 04 de septiembre de 2017.
12. Almeida ID, Schmalfuss T, Röhsig LM, Goldani LZ. Autologous transplant: microbial contamination of hematopoietic stem cell products. *Braz J Infect Dis.* 2012;16:345-50.
13. Ministry of Health of Malaysia. National standards for stem cell transplantation: collection, processing, stor-

- age and infusion of haemopoietic stem cells and therapeutic cells. 2012. Disponible en: www.moh.gov.my/images/gallery/orga/National%20Standards%20for%20Stem%20Cell%20Transplantation%20-%20Collection,%20Processing%20and%20Infusion%20of%20HSC%20and%20Therapeutic%20Cell.pdf. Acceso 04 de septiembre de 2017.
14. Booth GS, Gehrie EA, Jagasia MH, Shaw BE, Savani BN. When Can You Discard Stem Cells? *Biol Blood Marrow Transplant.* 2015;21:2033.
 15. NHS Foundation Trust. Haematopoietic Stem Cell Harvesting and Subsequent Storage. Disponible en <http://www.icid.salisbury.nhs.uk/ClinicalManagement/Haematology/Pages/StemCellHarvesting.aspx#appendix2>. Acceso 04 de septiembre de 2017.
 16. Holbro A, Baldomero H, Lanza F et al. Handling, processing and disposal of stem cell products in Europe: A survey by the cellular therapy and immunobiology working party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Cytotherapy.* 2018;20(3):453-460.
 17. Kriegsmann K, Wack M, Pavel P et al. Collection, Cryostorage, Transplantation, and Disposal of Hematopoietic Stem Cell Products. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019;25:382-390.



Atribución – No Comercial – Compartir Igual (by-nc-sa): No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original. Esta licencia no es una licencia libre.

Cambios hematopoyéticos en el inicio de las enfermedades infecciosas y autoinmunes

Hematopoietic changes in infectious and autoimmune diseases

Maydana L.

*Bioquímica responsable del Área Hematología y Hemostasia.
Laboratorio D'Agostino-Bruno.*

lmaydana@dagostino-bruno.com.ar

Fecha recepción: 27/06/2019
Fecha aprobación: 20/04/2020



ARTÍCULO
DE REVISIÓN

HEMATOLOGÍA
Volumen 24 N° 1: 59-69
Enero - Abril 2020

Palabras claves: sistema hematopoyético, autoinmunidad, enfermedades infecciosas, survivina.

Keywords: hematopoietic system, autoimmunity, infectious diseases, survivin.

Resumen

El sistema hematopoyético tiene características particulares: capacidad de auto-renovarse y diferenciarse, garantizando un número constante de precursores y la producción de todas las células de la sangre a lo largo de la vida de un individuo. El direccionamiento a los diferentes perfiles celulares dependerá del estímulo que genere la activación y de la expresión selectiva de receptores de superficie que permitan, además, la movilización de células desde la médula ósea hacia los sitios efectores. La estimulación continua de las células hematopoyéticas es un proceso que puede resultar perjudicial para éstas, siendo en parte la causal del desarrollo de enfermedades oncológicas o autoinmunes. El descubrimiento de la proteína survivina ha abierto una nueva ventana a la investigación de un potencial blanco terapéutico para la modulación de la apoptosis de estas células desreguladas.

Abstract

The hematopoietic system has particular characteristics: the capacity to self-renew and differentiate itself, guaranteeing a constant number of precursors and the production of all the blood cells through-

out an individual's life. The differentiation to the diverse cell profiles will depend on the activation stimuli generated and the selective expression of surface receptors which allow the mobilization of cells from the bone marrow towards the effectors sites. The continuous stimulation of hematopoietic cells may be harmful for them, contributing in the development of oncological or autoimmune diseases. The discovery of the survivin protein provides the opportunity for the investigation of a potential therapeutic target for the apoptosis modulation of these deregulated cells.

Introducción

El sistema hematopoyético presenta características particulares: está constituido por células con capacidad de autorrenovarse continuamente, proliferar y morir en forma programada. Se estima que en un adulto de 70 kg se producen 300.000 eritrocitos y 30.000 leucocitos por segundo. Y en situaciones específicas de demanda, por ejemplo ante una pérdida de sangre o ante una infección, este número puede incrementarse de 2 a 8 veces, y luego, mediante la puesta en marcha de diversos mecanismos regulatorios y de retroalimentación a distancia, volver a su

estado basal⁽¹⁾.

Se podría pensar al sistema hematopoyético como una organización jerárquica, con las células madres en la cima de la pirámide. Estas células troncales representan menos del 1% de las células de la médula ósea. No son identificables morfológicamente, por lo que deben ser estudiadas por el inmunofenotipo (CD34+, CD38- y adicionalmente CD90+, CD117+, CD133 y HLA-DR-), o a través de cultivos *in vitro*⁽²⁾. Estas células, mediante procesos de autorrenovación y diferenciación, permiten garantizar un número constante de progenitores y la producción continua de todas las células de la sangre durante toda la vida de un individuo (Figura 1)⁽³⁻⁴⁾.

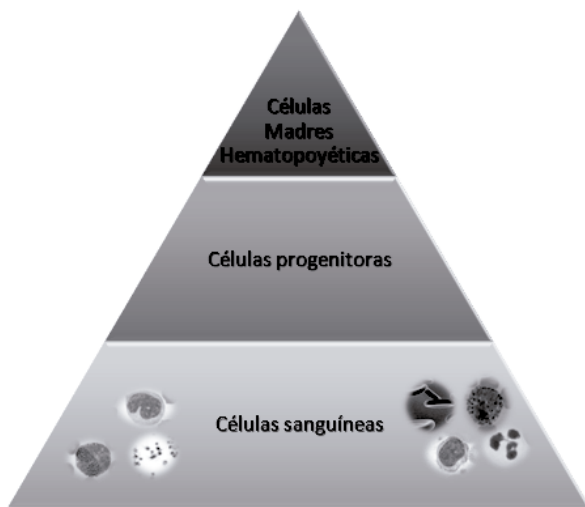


Figura 1. Sistema hematopoyético y su organización jerárquica (Figura adaptada⁽³⁾)

También se lo puede considerar un sistema dinámico y flexible, con capacidad de aumentar la producción y diferenciación celular bajo ciertos estímulos. Por ejemplo, una infección bacteriana sistémica genera la activación de la mielopoyesis como respuesta adaptada a la demanda, con leucocitosis, neutrofilia y presencia de granulocitos inmaduros (conocido como desviación a la izquierda). Las infecciones locales no generan esta magnitud de respuesta. En estos casos, suele haber una atracción de neutrófilos por quimiotaxis al sitio de la infección, y control local mediante intervención de las células polimorfonucleares/monocitos/macrófagos, y suele ser autolimitada. Por otro lado, frente a una infección viral (HIV, parvovirus B19, CMV, virus de Epstein Barr, hepatitis), la respuesta del sistema hematopoyético predominante

es la activación de linfocitos con linfocitosis absoluta y alteración en su morfología (aumento de tamaño, cambios en el aspecto del núcleo, basofilia citoplasmática, posible presencia de nucléolos)⁽⁵⁾. En cualquier caso, la diferenciación y maduración desde la célula madre involucra detener los procesos de autorrenovación, adquirir alta capacidad de proliferación y restricción a diferenciarse a una línea celular, para montar la respuesta más eficiente contra ese estímulo que modificó el estado de equilibrio⁽¹⁾.

La hematopoyesis: ¿dónde, cómo, cuándo?

A partir del nacimiento y hasta la muerte del individuo la médula ósea es el principal órgano hematopoyético. Es un tejido que se localiza en el interior de los huesos y está formado por 3 componentes celulares: el componente hematopoyético, el mesenquimal y el endotelial. El componente hematopoyético está formado por las células madres (HSC) que se ubican físicamente en nichos hematopoyéticos⁽⁶⁾. Este término fue acuñado por Joseph Grinell en 1917 y adaptado por Schofield en 1978⁽⁷⁾, aludiendo a un espacio donde las HSC se encuentran rodeadas por células que generan un ambiente favorable para su protección, proliferación y maduración. La zona endosteal, integrada por osteocitos y osteoblastos, fue el primer lugar físico identificado como nicho de las células troncales (nicho endosteal). La zona vascular, integrada por células endoteliales (CE) y mesenquimales (CM), fue identificada como un nicho adicional al endosteal (nicho vascular o endotelial) donde también se localizan las HSC y las células progenitoras hematopoyéticas (HSPC). Las células endoteliales median el paso de elementos celulares y proteicos hacia adentro y hacia afuera de la cavidad medular⁽⁸⁾. La CXCL12 o quimoquina SDF-1 (factor derivado del estroma), producida por las células endoteliales, es esencial para el *homing* y mantenimiento de las células troncales hematopoyéticas, el desarrollo de células B y de células dendríticas plasmacitoides⁽⁹⁾. Las células reticulares productoras de CXCL12 además secretan SCF (factor de células troncales), que es una quimoquina importante para mantener la viabilidad de las células troncales hematopoyéticas⁽¹⁰⁾. El Dr. Toshio Suda (investigador japonés, líder en el estudio de nichos de las HSC) ha propuesto que el nicho de las HSC está compuesto por células no especializadas, y que son las interacciones de múltiples linajes celulares (osteoblastos,

endoteliales, mesenquimales y hematopoyéticas) las que conforman el nicho de las HSC⁽¹¹⁾.

En condiciones normales, la hematopoyesis comienza en una HSC que, según el estímulo o entorno medular mediado por células del estroma, matriz extracelular (fibronectina, vitronectina, laminina, colágeno), moléculas de adhesión (integrinas, superfamilia de las inmunoglobulinas, selectinas), citoquinas y factores de crecimiento, se diferenciará a una célula progenitora multipotente (MPP), que pierde la capacidad de autorrenovarse, pero que presenta alta capacidad de diferenciarse, y va a ser la precursora por un lado de un progenitor mieloide común (CMP) -célula progenitora primitiva-, que a su vez dará origen al progenitor común a línea granulocito-macrófago (GMP), y eritrocito-megacariocito (MEP); y por otro lado, esa célula MPP puede ser precursora de un progenitor linfoide común (CLP), que dará origen a linfocitos B, T y células NK. Los linfocitos T requerirán luego una etapa de maduración en el timo. A su vez, tanto CMP como CLP, bajo el estímulo adecuado, puede dar origen al precursor de las células dendríticas (CDP) (Figura 2)⁽¹²⁾.

Esta regulación de la hematopoyesis se da tanto por estímulos externos, como las citoquinas, interacciones entre células o factores de maduración del microambiente medular, que además afectan la diferenciación, proliferación y retención de las HSC

en la médula ósea, como por reguladores intrínsecos epigenéticos que actúan en conjunto para favorecer la diferenciación de la HSC en los diferentes tipos celulares⁽¹³⁾. Y en esto tiene un rol fundamental la microbiota intestinal. Esto fue publicado por Josefsdottir y col⁽¹⁴⁾, donde se observa que el tratamiento prolongado con antibióticos tiene acción negativa sobre la microbiota intestinal en un modelo experimental murino, y esto, a su vez, da origen a citopenias, afectando la hematopoyesis normal. El efecto resulta reversible, suprimiendo el antibiótico. El efecto del fármaco sobre la hematopoyesis no es directo sobre las HSC o los progenitores sino sobre la microbiota intestinal. Ésta define un estado inflamatorio basal que incluye niveles de citoquinas como interferón (IFN) α/γ , IL-6, TNF con capacidad de modular la hematopoyesis. Las citoquinas proinflamatorias, como IFN, al unirse a su respectivo receptor de membrana, generan la activación de la vía de señalización JAK-STAT la cual converge en la activación del factor de transcripción STAT1, que juega un rol importante en la activación de linfocitos T. El fármaco, al modificar la microbiota intestinal, afecta el nivel de citoquinas anteriormente nombradas y, por lo tanto, suprime la vía de señalización mediada por STAT1, alterando la activación de linfocitos T. Entonces, modificando los niveles basales de citoquinas proinflamatorias, se afectaría la hematopoyesis a nivel medular (Figura 3)⁽¹⁴⁻¹⁵⁾.

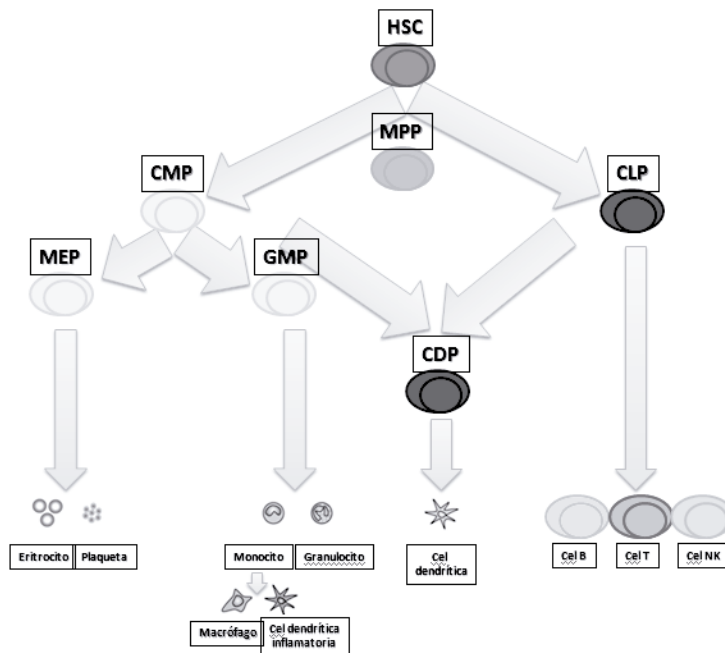


Figura 2. Hematopoyesis normal (Figura adaptada⁽¹⁾)

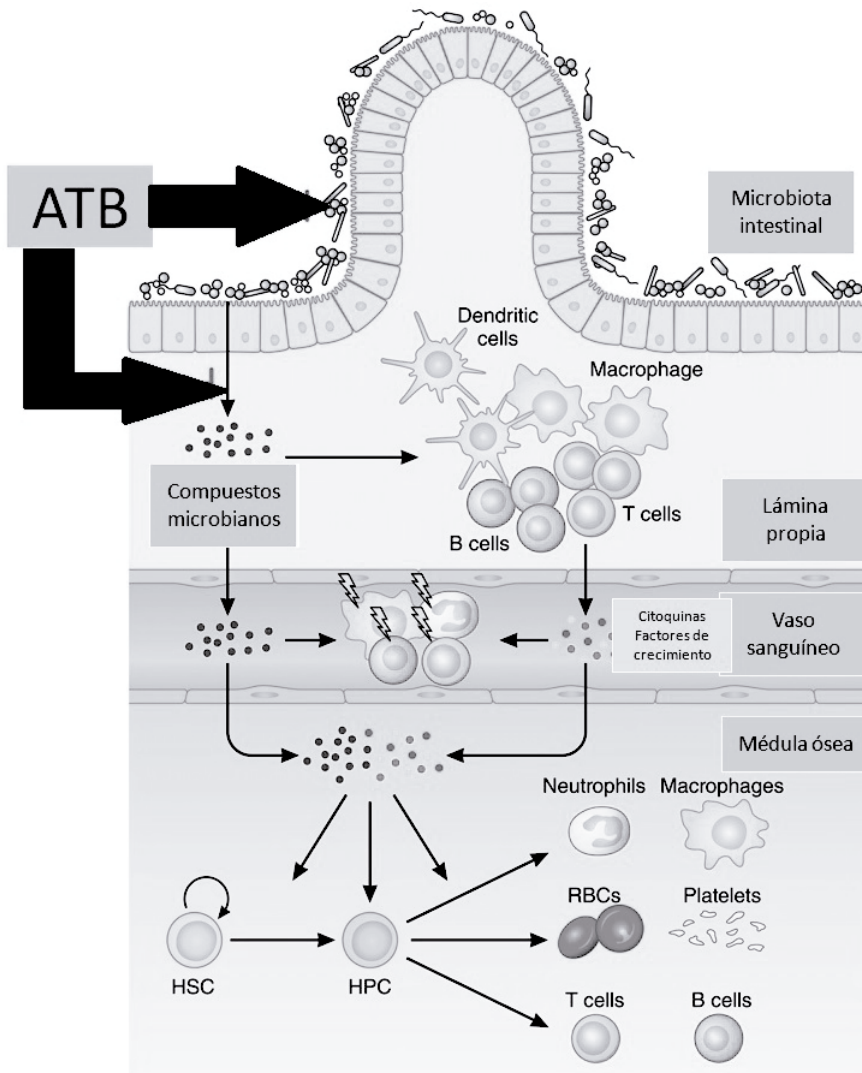


Figura 3. Acción de la microbiota intestinal sobre la hematopoyesis (Figura adaptada⁽¹⁵⁾)

Mecanismos y modelos de activación del sistema hematopoyético

Para la activación del sistema hematopoyético el primer paso será censar y reconocer el estímulo que alteró la homeostasis. Los componentes del sistema inmune innato, como las células dendríticas, poseen receptores especializados en el reconocimiento de patrón (PRRs) que censan patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) y patrones moleculares asociados a daño (DAMPs) cuando ha ocurrido daño tisular⁽³⁸⁾. Los receptores tipo Toll (TLR) pertenecen a la familia de los PRR y reconocen productos conservados de patógenos exógenos y posiblemente algún ligando endógeno del huésped^(16,17). Las HSPC también poseen PRR (TLR y receptores tipo NOD)⁽³⁰⁾. La unión al receptor activa una cas-

cada de señalización que induce la proliferación, diferenciación y migración celular y, además, la producción y secreción de citoquinas, como IL-6, destinadas a montar una respuesta inmune eficiente, estimulando un linaje celular en particular que actúe contra el agente invasor. Las CM y CE del nicho vascular también expresan receptores de citoquinas/quimoquinas y PRR que les permiten reconocer un medio inflamatorio local o sistémico generado por cambios o activación hematopoyética. La activación de estos receptores en CM y CE modula funciones celulares y activa la producción de una segunda ola de factores inflamatorios que también regulan la hematopoyesis. Ante el estímulo de IL-1 β y TNF- α , las CE producen GM-CSF, estimulando la granulopoyesis y el reclutamiento de neutrófilos⁽⁴¹⁾. Así es

como ha ido cambiando el concepto histológico que se ha tenido de las HSC, donde se pensaba que éstas se ubicaban en nichos estáticos de la médula ósea, rodeadas por células que sólo ejercían un papel de protección frente a agentes tóxicos o infecciosos. En la actualidad se conoce que juegan un rol activo en el montaje de la respuesta hacia un agente invasor: expresión de TLR, producción de citoquinas inflamatorias y quimoquinas (factores movilizantes)⁽¹⁸⁾. Ante un estímulo, cabe preguntarse ¿cómo se logra gestionar la diferenciación celular al linaje específico? Actualmente se aceptan dos modelos.

MODELO PERMISIVO (modelo A): consiste en regular la proliferación o apoptosis de células ya delegadas a un linaje específico⁽¹⁹⁾.

MODELO INSTRUCTIVO (modelo B): consiste en la inducción de un programa molecular en las células progenitoras que las induce a diferenciarse a un linaje en particular.

Cualquiera de los dos modelos implica la expresión de los receptores de citoquinas correspondientes en las células progenitoras y la unión de la citoquina implicada. Por ejemplo, la diferenciación de GMP a granulocitos o monocito/macrófago está direccionada por la presencia de G-CSF o M-CSF⁽²⁰⁾. Por otro lado, la linfopoyesis estará estimulada bajo el efecto de la IL-7, la cual suele estar presente en el medio ante un estado de linfopenia⁽²¹⁾. A través de la modulación de la expresión de la densidad de receptores de citoquinas, las HSCP responden de manera diferente a los cambios en su entorno al que están expuestas, logrando entonces la respuesta dirigida. Con la expresión diferenciada de receptores de citoquinas, se logra comisionar la diferenciación a un linaje celular particular y dirigir la respuesta medular a línea más eficiente (Figura 4)⁽²⁰⁾.

Otro dato: los receptores de citoquinas responsables de la diferenciación mieloide o linfóide se expresan

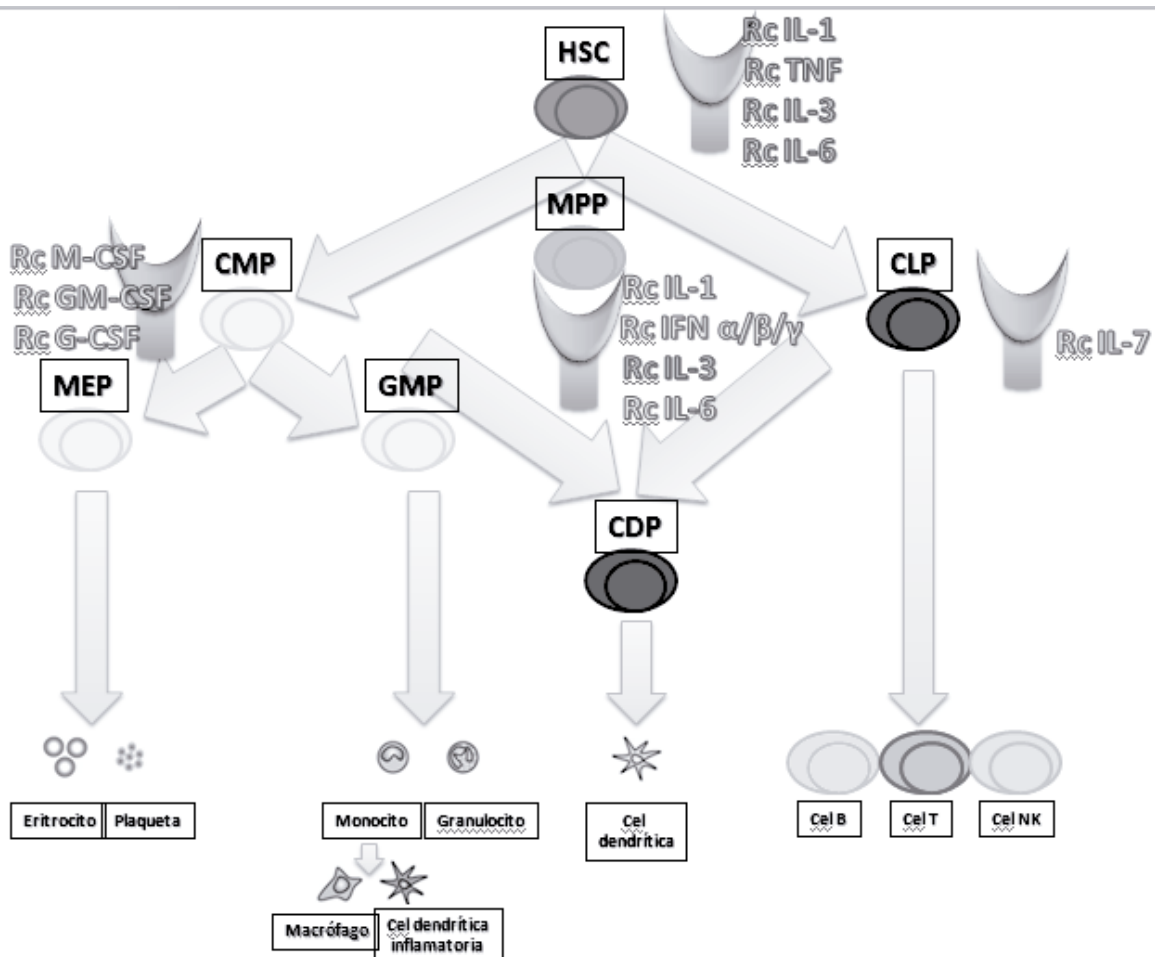


Figura 4. Regulación de la expresión de receptores de citoquinas (Figura adaptada⁽¹⁾)

en concentraciones medibles en los progenitores hematopoyéticos ya comisionados a linaje, mientras que en las HSC se hallan en baja concentración, con lo cual, ante un proceso inflamatorio o infeccioso, las células que responden son las ya comisionadas a linaje, que presentan una alta capacidad de proliferación más que de autorrenovación^(1,24,25). Pero sin el soporte de la HSC que, con sus procesos de autorrenovación y proliferación cooperen en el aporte de mayor número de progenitores, esta respuesta no puede ser sostenida en el tiempo. Y aquí es fundamental el papel del IFN tanto tipo I (α/β) como tipo II (γ). Por lo tanto, se necesita del trabajo conjunto entre el sistema inmune y el hematopoyético, mediado por el IFN para garantizar el reabastecimiento de progenitores y la capacidad de perpetuar la respuesta^(12,26).

Al aumentar la densidad celular, naturalmente la médula ósea se expande, con la limitante dada por la cavidad ósea. Por lo tanto, para obtener espacio, se requerirá de la movilización de células hacia otros órganos hematopoyéticos, que le permitan la expansión a aquellas líneas celulares que así lo requieran⁽²²⁾. En el trabajo de Takizawa y col se plantea que durante la respuesta mielopoyética, las citoquinas proinflamatorias (IL-1, IL-3, IL-6, G-CSF, GM-CSF) reducen la expresión de los factores de retención para la linfopoyesis y favorecen la movilización de linfocitos a los órganos linfoides periféricos, como el bazo. Y de esta manera se logra el efecto deseado: espacio físico en el interior del hueso para la expansión celular requerida^(12,22,23).

Inicio de la respuesta ante un estímulo

Anteriormente se planteó que las células del sistema innato son las que, mediante la unión del ligando a los PRR, desencadenan el perfil de citoquinas proinflamatorias para lograr la respuesta medular. Ahora existe evidencia de que los progenitores también expresan PRRs y responden a esta unión⁽²⁷⁾. Esto está sustentado por 3 líneas de evidencia. La primera línea muestra que, ante el reconocimiento de los PRR por parte de los TRL, existe una instrucción del linaje al que debe diferenciarse ese progenitor, con generación de células del sistema inmune innato, a expensas de frenar la diferenciación a otros linajes⁽²⁸⁻²⁹⁾. En la segunda línea, se sabe que un número pequeño de células madre y células progenitoras (HSCP) circulan en sangre periférica, pasan

por ganglios linfáticos y algunas retornan a la médula ósea para participar de la producción celular. Se cree que las células realizan estas migraciones para mantener el equilibrio en diferentes huesos, poblar el timo, actuar en la reparación de tejidos o respuesta frente a una infección. Hay evidencia de generación local de *clusters* de células con inmunofenotipo compatible con monocitos/granulocitos y células dendríticas. Las HSCP estarían haciendo una especie de patrullaje tisular, y controlando de manera local cualquier tipo de infección⁽³⁰⁾. Y en tercer lugar, se ha visto que las CDP expresan TLR2, 4 y 9. Ante un estímulo estas células regulan en forma decreciente la expresión del CXCR4, que retiene las HSCP en la MO, y expresan el receptor de *homing* de los ganglios linfoides (CCR7). De esta manera se favorece el reclutamiento de progenitores ya comisionados a un linaje, sin cambios de linaje, aumentando el número de células para dar batalla⁽³¹⁾. De esta manera queda claro que las HSCP pueden censar patógenos, y modulando la expresión de receptores de quimoquinas, tienen la capacidad de migrar a los sitios de inflamación y actuar intentando restaurar rápidamente la homeostasis del tejido involucrado.

Alteración en la regulación de los procesos asociados a la HSC

Es conocido que la estimulación crónica de las HSC puede resultar ser perjudicial. Se podría considerar que los 3 procesos “normales” que involucran a la HSC son: la autorreplicación, la diferenciación y la muerte celular programada. Las HSC pueden sufrir 40-60 divisiones durante la vida de un individuo⁽³¹⁾. Aquellas HSC envejecidas o aquellas utilizadas para un trasplante, o si han estado bajo estimulación continua por procesos inflamatorios o infecciosos y han sufrido una alta tasa de proliferación, podrían presentar alteraciones intrínsecas, como disminución en la capacidad de diferenciación a serie mieloides, disminución en la capacidad de autoduplicarse, agotamiento de la HSC y riesgo de acumular alteraciones genéticas⁽³²⁻³⁴⁾. Estas HSC con alteraciones genéticas no son competitivas, y en condiciones basales mueren. Pero bajo el estímulo continuo de un proceso inflamatorio o infeccioso, podrían ser rescatadas por el entorno o el microambiente en nichos pro-oncológicos y dar lugar a una hematopoyesis clonal (hematopoyesis clonal de significado incierto

-CHIP⁽⁶¹⁾ con alto potencial a desarrollar a una neoplasia hematológica (como LMC o SMD) o tumores sólidos⁽³⁵⁻³⁷⁾. Son células que escapan a la apoptosis o a la remoción por parte del sistema inmune, acumulan eventos genéticos en genes como los que codifican para NFκB, el receptor de TNF o TRL4, y son potenciales clones formadores de tumores⁽⁴⁰⁾. La resistencia a la apoptosis y los altos índices de proliferación celular constituyen dos mecanismos muy importantes que dan lugar a las enfermedades en humanos. La resistencia a la apoptosis de linfocitos autorreactivos en la selección en timo o médula ósea, o la falla en la apoptosis de linfocitos activados en forma crónica podrían jugar un rol fundamental en el inicio de una enfermedad autoinmune⁽⁴²⁾. Entonces cabe preguntarse: ¿es posible eliminar la estimulación celular continua?, ¿habrá que direccionar el blanco terapéutico a mejorar los procesos de apoptosis? En el trabajo de Ebrahimiyan y col⁽⁴³⁾ se

describe el rol de la proteína survivina (BIRC5), que pertenece al grupo de proteínas cuya función está vinculada a la inhibición de la apoptosis (IAP). Se trata de una proteína codificada por el gen ^{BIRC5}. Este gen pertenece a la familia de genes inhibidores de la apoptosis. Está ubicado en el cromosoma 17q25.3 y codifica para la proteína survivina de 16.5 kDa. Presenta 4 exones y 3 intrones. Gracias a los procesos de empalme alternativo, se pueden generar 6 variantes de survivina de diferente longitud. El 98% que se encuentra en la célula (citoplasma, núcleo y mitocondria) está compuesto por las 3 primeras isoformas de la figura 5. BIRC5 está altamente expresado en médula ósea, nódulos linfoides, placenta, testículos, granulocitos y células eritroides^(43,44).

Rol de la proteína survivina

La proteína survivina desempeña un rol importante en la regulación de la mitosis, inhibición de la apop-

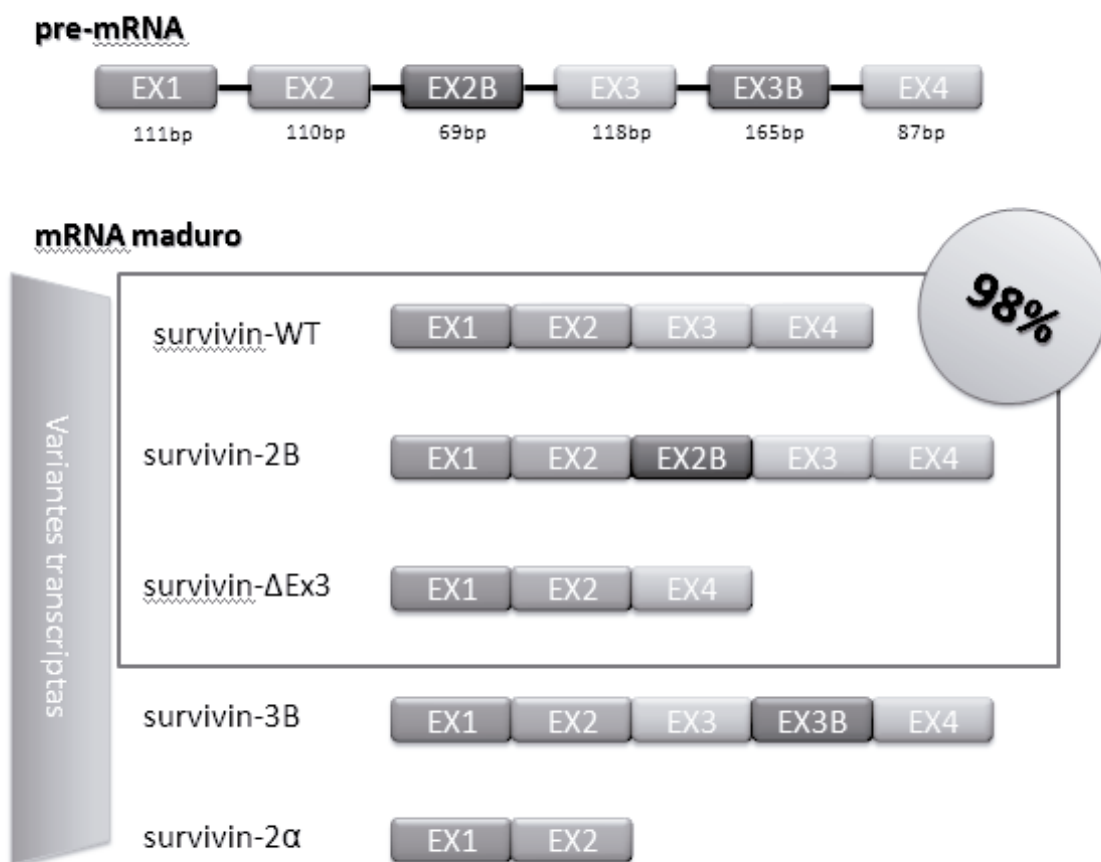


Figura 5. El gen *BIRC5* que codifica para la proteína survivina está ubicado en el cromosoma 17q25.3 (figura adaptada⁽⁴³⁾)

tosis y funcionamiento del sistema inmune.

Regulación de la mitosis: survivina se expresa en la fase G2/M, y durante esta fase interacciona con las aurora kinasas (AURK) y diferentes estructuras como el centrosoma, el kinetocoro, cromosomas en metafase y microtúbulos del huso mitótico⁽⁴⁷⁾.

Inhibición de la apoptosis: survivina se une a las caspasas tanto en el citoplasma como en la mitocondria bloqueando su función. En el citoplasma ocurre la formación del complejo survivina-XIAP (IAP ligada al X), el cual se vuelve resistente a la acción de la degradación dependiente de ubiquitina. Este complejo luego se une a la caspasa-3 para inhibir su función apoptótica. Actualmente este mecanismo de acción está cuestionado y en revisión⁽⁴⁴⁾. En la mitocondria ocurre la inhibición de la caspasa-9 mediante la unión de survivina al segundo activador mitocondrial de caspasa (Smac)/Diablo⁽⁴⁶⁾.

Funcionamiento del sistema inmune: survivina regula la diferenciación de linfocitos T efectores CD4+ y mantiene linfocitos CD8+ de memoria ante la unión de survivina al segundo activador mitocondrial de caspasa (Smac)/Diablo⁽⁴⁸⁾. Survivina está expresada en linfocitos estadio pro-B en el centro germinal, donde hay alta proliferación celular, cambio de cadenas e hipermutación somática en los receptores de células B⁽⁴⁹⁾. Regula la maduración de células dendríticas y la expresión de moléculas MHC clase II activando la expresión del coestimulador CD80/CD86, favoreciendo así el proceso de presentación antigénica⁽⁵⁰⁾. En la granulopoyesis se observa aumento de neutrófilos inmaduros, ya que éstos expresan la isoforma 2 α .

Pero la sobre-expresión de esta proteína no sería beneficiosa. Esto ha sido estudiado en células tumorales. La elevación de los niveles de survivina se asocia a la progresión del tumor, resistencia al tratamiento, menor tiempo de supervivencia y peor pronóstico, en relación al grupo de pacientes control. Se creó que la sobre-expresión se debe a mecanismos genéticos y epigenéticos en estas células tumorales. Y, por otro lado, la inhibición de la expresión de survivina lleva a la muerte de la célula tumoral^(51,52).

La sobre-expresión de survivina se ha asociado al desarrollo de enfermedades autoinmunes como liquen plano, miastenia gravis, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, esclerosis sistémica, psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal y artritis reumatoidea, como consecuencia de la capacidad

de la proteína de mantener sobrevivientes los linfocitos autorreactivos⁽⁵³⁾.

Si bien el laboratorio ha acompañado el avance de la medicina, a través del desarrollo de metodología que permite cuantificar citoquinas pro-inflamatorias, por el momento, la medición de survivina sólo está validada con fines de investigación.

Conclusiones

El aprendizaje de los mecanismos de la inmunidad innata ha progresado notablemente a partir del descubrimiento de los PRRs, entre ellos destacan los TLR, que no solamente participan en la secreción de citoquinas proinflamatorias y la expresión de moléculas coestimuladoras implicadas en la modulación de la respuesta inmune, sino también en el control de los eventos más tempranos de la hematopoyesis. Y esto ha permitido la comprensión tanto del sistema inmune como del hematopoyético de una manera más integral.

Conocer la expresión temprana de los receptores en las HSC ha generado una apertura de conocimiento de potenciales blancos terapéuticos, además de permitir avanzar en la fisiopatología de las enfermedades.

Lo mismo ha ocurrido con los avances en el estudio del nicho hematopoyético, de manera tal que la “nichoterapia”, que se basa en la modificación del ambiente y nicho de las HSC con fines terapéuticos, es considerado una más entre los tratamientos clínicos a aplicar frente a diferentes enfermedades del sistema hematopoyético⁽⁵⁴⁾.

A partir del descubrimiento de la proteína survivina se ha abierto una posibilidad para el estudio de la apoptosis y, además, utilizar este proceso como un potencial blanco terapéutico a través de los antagonistas de los IAP.

La proteína survivina ha sido muy estudiada en cáncer, inclusive los efectos de su disminución y el impacto en células tumorales. Por otro lado, en enfermedades autoinmunes los tratamientos se orientan a disminuir el nivel de citoquinas proinflamatorias e, indirectamente, esto disminuye los niveles de survivina. Hay que reconocer que, a pesar de que han pasado 21 años desde su descubrimiento, aún no se ha alcanzado el desarrollo de un agente anti-tumoral único y específico para survivina que presente alta eficiencia anti-tumoral y baja toxicidad tisular para ser utilizado en pacientes con cáncer⁽⁵⁵⁻⁵⁶⁾. Actualmente, un anti bcl-2 (venetoclax) ha sido aprobado por la FDA en 2016 para el tratamiento de la leuce-

mia linfocítica crónica (LLC)⁽⁵⁷⁾. Y recientemente la FDA ha aprobado el tratamiento de interferencia de RNA (ONPATRO™-Patisiran) para el tratamiento de la polineuropatía de la amiloidosis hereditaria mediada por transtiretina (hATTR) en adultos⁽⁵⁸⁾. Se desconoce aún si ambos fármacos tienen acción en pacientes con enfermedades autoinmunes.

A pesar de que nuestro conocimiento actual sobre el sistema hematopoyético se ha incrementado de manera notable gracias a la evidencia de las últimas décadas, la composición, el funcionamiento del microambiente medular y su injerencia sobre las HSC y HSPC es aún motivo de estudio^(59,60).

Conflictos de interés: La autora declara no poseer conflictos de interés.

Estos nuevos conocimientos animan a continuar investigando en la búsqueda del blanco terapéutico más adecuado.

Agradecimiento

A la Dra. Liliana D'Agostino, Directora Técnica del laboratorio D'Agostino-Bruno, por la revisión del manuscrito.

Al Dr. Fernando Ventimiglia, profesor asociado de la cátedra Hematología de la Universidad Nacional Arturo Jauretche, por la revisión del manuscrito y sus valiosos aportes.

Bibliografía

1. Takizawa H, Boettcher S. Demand-adapted regulation of early hematopoiesis in infection and inflammation. *Blood*. 2012; 119(13):2991-3002.
2. Doulatov S, Notta F, Laurenti E y col. Hematopoiesis: a human perspective. *Cell Stem Cell*. 2012; 10(2):120-36.
3. Saldívar-Santoyo HJ, Flores-Guzmán P, Mayani H y col. El nicho de las células troncales: los secretos de su "código postal". *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*. 2013; 56(3):47-59.
4. Sánchez SC, Palomo GI. Hematopoyesis. *Hematología*. Palomo GI, Pereira GJ y Palma BJ 2009, p 46-66. Editorial Universidad de Talca. Chile.
5. Rios E. Hemograma en las infecciones (segunda parte). *Rev Chil Pediatr*. 1986; 57(3):287-291.
6. Hoggatt J, Scadden DT. The stem cell niche: tissue physiology at a single cell level. *J Clin Invest*. 2012; 122(9):3029-34.
7. Schofield R. The relationship between the spleen colony forming cell and the haemopoietic stem cell. *Blood Cells*. 1978; 4(1-2):7-25.
8. Sipkins D, Wie X, Wu JW y col. In vivo imaging of specialized bone marrow endothelial microdomains for tumour engraftment. *Nature*. 2005; 435(7044):969-73.
9. Nagasawa T, Omatsu Y, Sugiyama T. Control of hematopoietic stem cells by the bone marrow stromal niche: the role of reticular cells. *Trends Immunol*. 2011; 32(7):315-20.
10. Omatsu Y, Sugiyama T, Kohara H y col. The essential functions of adipo-osteogenic progenitors as the hematopoietic stem and progenitor cell niche. *Immunity*. 2010 Sep 24; 33(3):387-99.
11. Nakamura-Ishizu A, Suda T. Hematopoietic stem cell niche: An interplay among a repertoire of multiple functional niches. *Biochim Biophys Acta*. 2013; 1830(2):2404-9.
12. Takizawa H, Manz MG. Impact of inflammation on early hematopoiesis and the microenvironment. *Int J Hematol*. 2017; 106:27-33
13. Cabezas-Wallscheid N, Klimmeck D, Hansson J y col. Identification of regulatory networks in HSCs and their immediate progeny via integrated proteome, transcriptome and DNA methylome analysis. *Cell Stem Cell*. 2014; 15:507-22.
14. Josefsson KS, Baldrige MT, Kadmon CS y col. Antibiotics impair murine hematopoiesis by depleting the intestinal microbiota. *Blood*. 2017; 129(6):729-739.
15. Theilgaard-Mönch K. Gut microbiota sustains hematopoyesis. *Blood*. 2017; 129(6):662-663.
16. Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol*. 2003; 21:335-376.
17. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol*. 2010; 11(5):373-384.
18. Wang LD, Wagers AJ. Dynamic niches in the origination and differentiation of haematopoietic stem cells. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2011; 12(10):643-655.

19. Metcalf D. Lineage commitment and maturation in hematopoietic cells: the case for extrinsic regulation. *Blood*. 1998; 92(2):345-347, discussion 352.
20. Rieger MA, Hoppe PS, Smejkal BM y col. Hematopoietic cytokines can instruct lineage choice. *Science*. 2009; 325(5937):217-218.
21. Napolitano LA, Grant RM, Deeks SG y col. Increased production of IL-7 accompanies HIV-1-mediated T-cell depletion: implications for T-cell homeostasis. *Nat Med*. 2001; 7(1):73-79.
22. Ueda Y, Kondo M, Kelsoe G. Inflammation and the reciprocal production of granulocytes and lymphocytes in bone marrow. *J Exp Med*. 2005; 201(11):1771-1780.
23. Ueda Y, Yang KY, Foster SJ y col. Inflammation controls B lymphopoiesis by regulating chemokine CXCL12 expression. *J Exp Med*. 2004; 199(1):47-57.
24. Akashi K, Traver D, Miyamoto T y col. A clonogenic common myeloid progenitor that gives rise to all myeloid lineages. *Nature*. 2000; 404(6774):193-197.
25. Adolfsson J, Borge OJ, Bryder D y col. Upregulation of Flt3 expression within the bone marrow Lin(-) Sca1(-)c-kit(-) stem cell compartment is accompanied by loss of self-renewal capacity. *Immunity*. 2001; 15(4):659-669.
26. Baldrige MT, King KY, Boles NC y col. Quiescent haematopoietic stem cells are activated by IFN-gamma in response to chronic infection. *Nature*. 2010; 465(7299):793-797.
27. Nagai Y, Garrett KP, Ohta S y col. Toll-like receptors on hematopoietic progenitor cells stimulate innate immune system replenishment. *Immunity*. 2006; 24(6):801-812.
28. De Luca K, Frances-Duvert V, Asensio MJ y col. The TLR1/2 agonist PAM(3)CSK(4) instructs commitment of human hematopoietic stem cells to a myeloid cell fate. *Leukemia*. 2009; 23(11):2063-2074.
29. Sioud M, Floisand Y, Forfang L y col. Signaling through toll-like receptor 7/8 induces the differentiation of human bone marrow CD34+ progenitor cells along the myeloid lineage. *J Mol Biol*. 2006; 364(5):945-954.
30. Massberg S, Schaerli P, Knezevic-Maramica I y col. Immunosurveillance by hematopoietic progenitor cells trafficking through blood, lymph, and peripheral tissues. *Cell*. 2007; 131(5):994-1008.
31. Schmid MA, Takizawa H, Baumjohann DR y col. Bone marrow dendritic cell progenitors sense pathogens via Toll-like receptors and subsequently migrate to inflamed lymph nodes. *Blood*. 2011; 118(18):4829-4840.
32. Takizawa H, Regoes RR, Boddupalli CS y col. Dynamic variation in cycling of hematopoietic stem cells in steady state and inflammation. *J Exp Med*. 2011; 208(2):273-284.
33. Sudo K, Ema H, Morita Y y col. Age associated characteristics of murine hematopoietic stem cells. *J Exp Med*. 2000; 192(9):1273-1280.
34. Dykstra B, Olthof S, Schreuder J y col. Clonal analysis reveals multiple functional defects of aged murine hematopoietic stem cells. *J Exp Med*. 2011; 208(13):2691-2703.
35. Raaijmakers MH. Niche contributions to oncogenesis: emerging concepts and implications for the hematopoietic system. *Haematologica*. 2011; 96(7):1041-1048.
36. Raaijmakers MH, Mukherjee S, Guo S y col. Bone progenitor dysfunction induces myelodysplasia and secondary leukaemia. *Nature*. 2010; 464(7290):852-857.
37. Kristinsson SY, Bjorkholm M, Hultcrantz M y col. Chronic immune stimulation might act as a trigger for the development of acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2011; 29(21):2897-2903.
38. Schmid MA, Takizawa H, Baumjohann DR y col. Bone marrow dendritic cell progenitors sense pathogens via Toll-like receptors and subsequently migrate to inflamed lymph nodes. *Blood*. 2011; 118:4829-40.
39. Palmer L, Briggs C, McFadden S y col. ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features. *Int J Lab Hematol*. 2015; 37:287-303.
40. Ben-Neriah Y, Karin M. Inflammation meets cancer, with NF- κ B as the matchmaker. *Nat Immunol*. 2011; 12:715-23.
41. Broudy VC, Kaushansky K, Segal GM y col. Tumor necrosis factor type alpha stimulates human endothelial cells to produce granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1986; 83:7467-71.
42. Lenardo M, Chan KM, Hornung F y col. Mature T lymphocyte apoptosis immune regulation in a dynamic and unpredictable antigenic environment. *Annu Rev Immunol* 1999; 17:221-253.
43. Ebrahimiyan H. Survivin and autoimmunity; the ins and outs. *Immunology Letters*. 2018; 193:14-24.

44. Hrdinka M, Yabal M. Inhibitor of apoptosis proteins in human health and disease. *Genes and Immunity*. 2019; 20:641-650.
45. Zumbrägel FK, Machtens DA, Curth U y col. Survivin does not influence the anti-apoptotic action of XIAP on caspase-9. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017; 482:530-5.
46. Du C, Fang M, Li Y y col. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell*. 2000; 102(1):33-42.
47. Li F, Ambrosini G, Chu EY y col. Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint by survivin. *Nature*. 1998; 396(6711):580-584.
48. Xing Z, Conway EM, Kang C y col. Essential role of survivin, an inhibitor of apoptosis protein, in T cell development, maturation, and homeostasis. *J. Exp. Med*. 2004; 199(1):69-80.
49. Miletic AV, Jellusova J, Cato MH y col. Essential role for survivin in the proliferative expansion of progenitor and mature B cells. *J. Immunol*. 2016; 196(5):2195-2204.
50. Singh P, Hoggatt J, Hu P y col. Blockade of prostaglandin E2 signaling through EP1 and EP3 receptors attenuates Flt3L-dependent dendritic cell development from hematopoietic progenitor cells. *Blood*. 2012; 119(7):1671-1682.
51. Li F. Survivin study: what is the next wave? *J. Cell. Physiol*. 2003; 197(1):8-29.
52. Wu J, Ling X, Pan D y col. Molecular mechanism of inhibition of survivin transcription by the GC-rich sequence-selective DNA binding antitumor agent, hedamycin: evidence of surviving down-regulation associated with drug sensitivity. *J Biol Chem*. 2005; 280(10):9745-9751.
53. Gravina G, Wasén C, Garcia-Bonete MJ y col. Survivin in autoimmune diseases. *Autoimmun Rev*. 2017; 16:845-55.
54. Levesque JP, Winkler IG, Rasko JEJ. Nichotherapy for stem cells: There goes the neighborhood. *Bioessays*. 2013; 35(3):183-90.
55. Li F, Aljahdali I, Ling X. Cancer therapeutics using survivin BIRC5 as a target: what can we do after over two decades of study? *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 2019; 38:368.
56. Wheatley SP, Altieri DC. Survivin at a glance. *J Cell Sci*. 2019; 132(7).
57. Croce CM, Reed JC. Finally, An Apoptosis-Targeting Therapeutic for Cancer. *Cancer Res*. 2016; 76(20):5914-20.
58. Weng Y, Xiao H, Zhang J y col. RNAi therapeutic and its innovative biotechnological evolution. *Biotechnol Adv*. 2019; 37(5):801-25.
59. Vinchi F, Mendelson A, Yazdanbakhsh K y col. Uncovering the Bone Marrow Microenvironment Cell by Cell. *HemaSphere*. 2019; 3:6.
60. Tikhonova AN, Dolgalev I, Hu H y col. The bone marrow microenvironment at single-cell resolution. *Nature*. 2019; 569:222-228.
61. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J y col. Age-Related Clonal Hematopoiesis Associated with Adverse Outcomes. *N Engl J Med*. 2014; 371:2488-2498.



Atribución – No Comercial – Compartir Igual (by-nc-sa): No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original. Esta licencia no es una licencia libre.

Anemias hemolíticas autoinmunes, diagnóstico y tratamiento

Autoimmune haemolytic anemia: Diagnosis and treatment

Maldonado Rojas M; Toro Opazo C

*Dpto. Bioquímica Clínica e Inmunohematología, Facultad de Ciencias de la Salud.
Universidad de Talca - Chile*

mamaldon@utalca.cl

Fecha recepción: 08/10/2019

Fecha aprobación: 13/4/2020



ARTÍCULO
DE REVISIÓN

HEMATOLOGÍA
Volumen 24 N° 1: 70-80
Enero - Abril 2020

Palabras claves: anemia hemolítica autoinmune,
anemia hemolítica asociada a drogas,
autoanticuerpos,
tratamiento.

Keywords: autoimmune hemolytic anemia,
drug-induced immune hemolytic anemia,
autoantibodies,
treatment.

Resumen

La anemia hemolítica autoinmune es causada por anticuerpos que están dirigidos contra los eritrocitos del propio organismo. En esta revisión se abordan las AHAI causadas por anticuerpos de tipo IgG, IgM, anticuerpos bifásicos y secundarios al uso de medicamentos. Se consideran aspectos etiológicos y fisiopatológicos, el diagnóstico y tratamientos necesarios para los distintos trastornos causantes. Finalmente se presenta una conclusión, donde se manifiesta que en el diagnóstico, el fundamento del test anti globulina, con innovación en técnicas para su realización, continúa como principal prueba para su estudio, lo que confirma su eficacia, y en cuanto a tratamiento, los corticoides siguen siendo el tratamiento de primera línea y surgen pautas de tratamientos avaladas por estudios de casos, que muestran la efectividad de los anticuerpos monoclonales

anti CD20, transformándolos en agentes terapéuticos de segunda línea.

Abstract

Autoimmune hemolytic anemia is caused by antibodies that target the body's own red blood cells antigens. In this review, we discuss AHAI caused by IgG, IgM antibodies, biphasic antibodies and secondary to drug use. The etiological and pathophysiological aspects are considered, as well as the diagnosis and necessary treatments for the different causing disorders. Finally a conclusion, that the diagnosis, the basis of the anti-globulin test, with innovation in techniques for its realization, continues as the main test for study, which confirms its efficacy, and treatment, corticosteroids they are still the first-line treatment and treatment guidelines are supported by case studies, which show the effectiveness

of anti-CD20 monoclonal antibodies, transforming them into second-line therapeutic agents.

Introducción

Existen varios tipos de anemias hemolíticas, sin embargo todas tienen como denominador común la destrucción del eritrocito. Es importante recalcar su amplio espectro de presentación, relación con procesos tóxicos, neoplásicos y hereditarios. En cuanto a su clasificación, se puede dividir en intracorpúsculares, en las que la causa de la hemólisis radica en los eritrocitos y generalmente son hereditarias; y anemias hemolíticas extracorpúsculares, en las que la causa del proceso hemolítico es ajena a los glóbulos rojos. Cuando se producen anticuerpos dirigidos contra estructuras propias, aparecen las enfermedades autoinmunes. La inmunopatología de las enfermedades autoinmunes se desencadena por la presencia de anticuerpos auto-reactivos o por la activación de células T que secretan citoquinas tipo Th1 que conducen a la activación de fagocitos. Una de estas enfermedades es la anemia hemolítica autoinmune (AHAI), en este caso, los autoanticuerpos están dirigidos contra los glóbulos rojos del propio organismo.

Anemias hemolíticas autoinmunes

AHAI es el resultado de la destrucción de los glóbulos rojos en pacientes cuyo organismo ha formado anticuerpos de especificidad frente a antígenos de sus propios glóbulos rojos⁽¹⁻³⁾. Este tipo de anemia representa el 5% de todas las anemias, con una incidencia que varía entre 0,4 y 2,0 por cada 100.000 habitantes, siendo más frecuentes en pacientes de sexo femenino. Puede presentarse a cualquier edad; sin embargo se ha visto que dos tercios de los pacientes que presentan la patología son mayores de 50 años⁽⁴⁾.

Las causas por las cuales se puede presentar este tipo de anemia son diversas y comprenden desde estados fisiológicos como el embarazo (incidencia 1/50.000) a usos de un fármaco⁽⁵⁻⁷⁾; sin embargo, la gran mayoría de los casos se presentan secundarias a alguna patología^(3,8). La sintomatología en la gran mayoría de los pacientes se ve enmascarada por el padecimiento de base haciendo poco específicas sus manifestaciones clínicas⁽⁹⁾. Éstas pueden ir desde ausencia de síntomas, si la destrucción de los glóbulos rojos es leve y se desarrolla gradualmente; presentar síntomas similares a cualquier anemia, si la

hemólisis es grave o rápida; o casos en que la hemólisis persiste por varios meses, manifestar ictericia y aumento en el tamaño del bazo. Los mecanismos fisiopatológicos de la destrucción de los glóbulos rojos en sí son diferentes y dependen del anticuerpo o inmunoglobulina implicada, que pueden ser de isotipo IgG o IgM, causando hemólisis extra o intravascular, respectivamente^(10,11).

Clasificación

El reconocimiento de las formas más comunes de AHAI se logró gracias al desarrollo de la prueba de Coombs directa e indirecta en el año 1945⁽⁹⁾, hoy en día denominados prueba de antiglobulina directa (PAD) y prueba de antiglobulina indirecta (PAI). Fundamentalmente, la PAD se utiliza para determinar si los glóbulos rojos tienen inmunoglobulina G unida a la superficie (IgG) y / o complemento, usando en primer lugar suero antiglobulina poliespecífico que contiene anticuerpos anti-IgG y anti-complemento. Si la reacción es positiva, los hematíes se enfrentan con suero antiglobulina mono específico para detectar individualmente IgG y complemento, contiene anticuerpos anti-IgG y anti-complemento⁽¹²⁾.

Para la realización de esta prueba se han descrito diferentes técnicas, como hemaglutinación en fase líquida (tubo), aglutinación en columna (gel test), citometría de flujo y técnicas moleculares como *immunoblotting*⁽¹³⁻¹⁵⁾.

En las AHAI los anticuerpos que se producen van dirigidos generalmente contra sistemas de antígenos eritrocitarios y reaccionan a diferentes temperaturas, permitiendo clasificarlas de acuerdo al isotipo del autoanticuerpo formado en: a) anemia hemolítica por anticuerpos calientes, cuando es una inmunoglobulina G (IgG) b) por anticuerpos fríos, si la inmunoglobulina es M (IgM) c) anemias por anticuerpos bifásicos, capaces de unirse al eritrocito a temperaturas bajas (4°C) y provocar la lisis del hematíe al retornar la sangre de la circulación capilar a la circulación venosa (37°C), d) de tipo mixtas, en donde se pueden presentar tanto anticuerpos calientes como fríos como responsables del cuadro hemolítico y e) el grupo de AHAI causada por el uso de algunas drogas^(3,4,16).

a) AHAI producidas por anticuerpos calientes

Corresponden al 80% de las AHAI. Es más frecuente en mujeres, entre la tercera y cuarta década de

vida. Puede ser idiopática en el 50% de los casos, o secundaria a enfermedades: síndromes linfoproliferativos, lupus eritematoso sistémico, leucemia linfocítica crónica, entre otros^(9,17,18). El curso puede ser agudo o crónico, con remisiones y exacerbaciones. La subclase de IgG formada que predomina es IgG1 y en menor proporción IgG3, siendo las dos subclases de inmunoglobulinas G las que fijan con mayor avidéz complemento; IgG3 resulta ser más eficiente, pues requiere de algunos cientos de moléculas, respecto a IgG1 que requiere 10,000 moléculas para producir el mismo efecto⁽¹⁹⁾.

Fisiopatología: la sensibilización del eritrocito ocurre a 37°C, pudiendo provocar hemólisis extravascular por fagocitosis en: células reticuloendoteliales en sinusoides del bazo, cuando la cantidad de IgG unida al eritrocito es baja, o fagocitosis por los macrófagos a nivel de hígado, si la cantidad de IgG recubriendo los eritrocitos es alta y se ha producido activación del complemento hasta C3b, lo que coadyuva a la opsonización. También se ha descrito que los eritrocitos opsonizados con IgG pueden unirse al receptor Fc de los macrófagos, provocando daño en la membrana celular y dando origen a los microesferocitos, los que también serán retirados en los senos del bazo^(20,21).

Cuando la AHAI se desarrolla con púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), simultánea o secuencial, es conocida como Síndrome de Evans⁽²²⁾.

b) AHAI producidas por anticuerpos fríos

Conocida como síndrome de aglutininas frías, esta AHAI es poco común. El isotipo de inmunoglobulina formada es IgM y representa el 10 - 20% de las AHAI⁽⁵⁾. Su incidencia es mayor en ancianos.

La hemólisis producida por estos anticuerpos actúa con mayor eficiencia entre los 0 y 20°C. Se diferencian de los anticuerpos fríos naturales irregulares porque en esta patología el anticuerpo presenta un mayor rango térmico y títulos altos (> 1:1000)^(3,23). Se puede presentar en forma idiopática, pero lo habitual es asociada a infecciones, particularmente a infección por *Mycoplasma pneumoniae* y presencia de anticuerpos contra antígeno I (sistema I ISBT 027)⁽²⁴⁾. También se han descrito casos en mononucleosis infecciosa, VIH, hepatitis C, influenza, citomegalovirus, rubéola, varicela, sarampión, sífilis, malaria, endocarditis bacteriana, entre otros⁽²⁵⁾. En forma más rara, en casos asociados a síndromes linfoproliferativos, en

donde la crioaglutinina es monoclonal^(10,26).

Fisiopatología: la hemólisis que se produce en estos casos es intravascular, dado que la IgM es eficiente en la activación del complemento hasta llegar a complejo ataque de membrana (C9) y también está involucrado el sistema retículo endotelial. El anticuerpo IgM se une a los glóbulos rojos a temperaturas por debajo de los 37°C. Conforme los hematíes retornan a la temperatura corporal, la IgM se disocia, dejando sólo a C3b unido a la superficie del eritrocito. La IgM liberada puede entonces unirse a otras células a bajas temperaturas. Mientras el hematíe recubierto de C3b es detectado por receptores específicos de los macrófagos del sistema retículo endotelial (particularmente hígado) sufriendo fagocitosis⁽²⁷⁾. Este proceso suele ser autolimitado, ya que con el tiempo los componentes C3b son hidrolizados a su forma inactiva (C3d), por inactivador C3 impidiendo que sean reconocidos por los macrófagos⁽²¹⁾. A pesar de que el síndrome generalmente tiene un curso leve, en algunos casos puede poner en peligro la vida del paciente. La manifestación clínica característica de este síndrome es la acrocianosis^(10,23,26).

c) AHAI producidas por anticuerpos bifásicos

También conocida como hemoglobinuria paroxística *a frigore*. En este tipo, los autoanticuerpos producidos son de tipo IgG, siendo su especificidad hacia el antígeno P (sistema sanguíneo P ISBT 003)⁽²⁴⁾. Es poco frecuente (2%) y suele presentarse en niños, secundaria a infecciones. Su curso clínico es crónico y cursa con hemoglobinuria tras la exposición al frío, escalofríos, vómitos, fiebre, dolor renal, abdominal y de miembros inferiores.

El anticuerpo se une al eritrocito en frío, luego el complejo antígeno-anticuerpo se separa, por tanto no hay fagocitosis y la hemólisis se produce a 37°C, siendo la destrucción aguda a nivel intravascular por activación del complemento^(2,7,26). Esta característica (importante para ser demostrada en el laboratorio) los denomina anticuerpos de Donath-Landsteiner.

d) AHAI inducida por drogas

Se han identificado varios medicamentos que pueden ocasionar AHAI y PAD positivo, por diferentes mecanismos⁽²³⁾, pudiendo clasificarlas según el mecanismo de acción de la droga⁽²⁸⁾. Suponen entre el 16 al 18 % de las anemias hemolíticas autoinmunes⁽²⁾.

a) *Mecanismo tipo hapteno*: en este tipo, la droga se une a la membrana del eritrocito en forma covalente sin causar daño a los eritrocitos. Este paso le otorga la antigenicidad necesaria para que se sintetizen anticuerpos dirigidos contra los epítopes de la droga que recubre estas células. Los anticuerpos formados contra el hapteno son predominantemente isotipo IgG, lo que explica que la mayoría de los eritrocitos recubiertos con la droga sean retirados de circulación por los macrófagos del bazo, haciendo que la hemólisis que predomine sea extravascular⁽²⁹⁾. El medicamento que clásicamente se describe en la literatura para este mecanismo es la penicilina. Se ha reportado que el 3% de los pacientes que se les administra altas dosis por vía intravenosa (> a 10×10^6 U/día) desarrollarán anticuerpos anti-penicilina^(20,29). Estibofeno, cefalosporinas, tetraciclinas, tolbutamida y semisintéticos de penicilinas son otras drogas que pueden ocasionar AHAI por este mecanismo⁽²⁸⁾.

b) *Mecanismo de tipo complejo inmunitario*: se inicia con la formación de anticuerpos anti-droga predominantemente de isotipo IgM, los que reconocerán a la droga en el plasma, para finalmente unirse en forma inespecífica a la membrana del glóbulo rojo formando una tri-molécula estable o también llamada complejo ternario, provocando que la destrucción de los glóbulos rojos esté mediada por la activación del sistema del complemento hasta C9, dando como resultado la lisis intravascular de los glóbulos rojos, que puede llevar al paciente a fallo renal, coagulación intravascular diseminada y/o muerte⁽³⁰⁾. Este mecanismo puede ser desarrollado con pequeñas dosis del fármaco⁽²⁸⁾.

Es importante señalar que el término “autoinmune”, es inapropiado para designar a las anemias hemolíticas por drogas que provocan la hemólisis por los mecanismos anteriormente descritos, por el hecho de que los anticuerpos producidos son específicos a un componente exógeno (la droga) y no contra componentes propios del eritrocito.

c) *Mecanismo tipo formación de anticuerpos*: en este caso, a diferencia de los descritos anteriormente, los anticuerpos formados son verdaderos autoanticuerpos antieritrocitos. Se han descrito dos mecanismos para explicar su formación: a) que la droga interfiere con la función de los linfocitos T supreso-

res, ayudando a la proliferación de células B; b) que la droga cause una alteración a los antígenos de los glóbulos rojos, creando nuevos epítopes, que no son reconocidos como propios. El isotipo de autoanticuerpo formado es principalmente IgG, que se une a los eritrocitos, para ser retirados de circulación a través de fagocitosis^(2,28,30).

La droga antihipertensiva alfa-metildopa (*Aldomet*), es la que con más frecuencia induce este tipo de mecanismo de hemólisis inmune⁽³¹⁾ y tiene la particularidad que la suspensión de la administración del fármaco no asegura la remisión del proceso hemolítico, lo que apoya el concepto de que el trastorno ocurre a nivel central⁽³²⁾. Se ha visto que el desarrollo de los anticuerpos es dependiente de dosis y tiempo de administración de la droga. Un 30 % de los pacientes tratados con alfa-metildopa desarrollan una PAD positiva, variando desde un 11% a 40% según la dosis diaria; sin embargo, menos del 1% desarrollan una anemia hemolítica significativa⁽²³⁾.

d) *Mecanismos de adherencia no específica*: utilizado para describir cómo algunos medicamentos parecen ser capaces de modificar la membrana de los eritrocitos, provocando una disminución de la vida media, sin mediar formación de un anticuerpo. En 1971, Spath et al⁽³³⁾ demostraron que al enfrentar un plasma normal a glóbulos rojos tratados con cefalotina, éstos eran capaces de adsorber IgG, C3, albúmina, fibrinógeno, entre otros, dando una PAD positiva. Posteriormente se demostró que la unión del medicamento modifica la membrana del hematíe, haciendo que dichas proteínas se unan de forma inespecífica. Esta unión no provoca hemólisis de los glóbulos rojos; sin embargo, se ha demostrado una menor vida media de éstos en pacientes que reciben tratamiento con medicamentos que contienen inhibidores de β -lactamasas y cefalosporina, aparentemente mediado por macrófagos⁽³⁰⁾.

Diagnóstico

Las AHAI, en la práctica clínica, suele ser de diagnóstico y tratamiento problemático y dependen de la adecuada comprensión de la fisiopatología y las pruebas de laboratorio realizadas, que incluyen la combinación de signos de hemólisis en los glóbulos rojos junto a la detección de auto-anticuerpos y/o complemento. La primera evidencia de una AHAI es la PAD, que generalmente da resultado positivo;

sin embargo, un resultado negativo, no excluye el diagnóstico de AHAI⁽³⁴⁾.

Pruebas de laboratorio: se observan niveles elevados de lactato deshidrogenasa (LDH), hiperbilirrubinemia indirecta, disminución de haptoglobina, hemoglobinuria y reticulocitosis y/o esferocitosis en frotis sanguíneo, lo que refleja un incremento de la destrucción de los glóbulos rojos, ya sea debido a la hemólisis intra o extravascular^(29,35).

Diagnóstico inmuno-hematológico: tiene como objetivo detectar auto-anticuerpos contra glóbulos rojos, por medio de la PAD, que será positiva en un 90% de casos de AHAI por anticuerpos calientes⁽¹⁶⁾; sin embargo, si esta prueba es negativa, la presencia de esferocitos en la sangre periférica puede apoyar el diagnóstico⁽⁴⁾. En el caso de que la PAD resulte positiva al utilizar un reactivo poliespecífico, se debe realizar una PAD diferencial, con la utilización de reactivos monoespecífico (anti IgG, anti IgA, anti IgM, anti C3c, anti C3d, anti C4b), con el fin de discriminar el tipo de inmunoglobulinas y/o la fracción de complemento que recubre los glóbulos rojos. El 20 a 66% de los casos son únicamente debidos a IgG, del 24 a 63% será tanto IgG como C3, del 7 a 14% será solo C3 y del 1 a 4%, será negativo⁽³⁶⁾. En el 10% de las AHAI de tipo caliente la PAD es negativa. Tres razones principales explican la ausencia de una prueba positiva de antiglobulina directa

en estos casos: a) sensibilización IgG por debajo del umbral de detección por el reactivo antiglobulina comercial, b) IgG de baja afinidad, eliminada por lavados preparatorios no realizados a 4°C o a baja fuerza iónica y c) sensibilización de los eritrocitos por IgA, o rara vez por IgM monomérica, pero no acompañada por fijación del complemento, y por lo tanto no detectable por un reactivo antiglobulina comercial que contiene anti-IgG y anti-C3d.

La opsonización de los glóbulos rojos con anticuerpos puede ser confirmada utilizando un método alternativo para detectar niveles bajos de inmunoglobulinas, como el uso de lavados de baja fuerza iónica a 4°C para preparar las células, antes de adicionar el suero antiglobulina⁽³⁷⁾, utilizar pruebas con anti-IgA y, si es necesario, un reactivo anti-IgM^(16,38-40). Otra alternativa es la citometría de flujo que se utiliza para detectar glóbulos rojos recubiertos ya sea con auto-anticuerpos o complemento^(13,41,42).

El uso de *immunoblotting* para detectar pequeñas cantidades de inmunoglobulina adherida a los eritrocitos ha sido demostrado; sin embargo, se requieren estudios adicionales para validar el uso de esta técnica⁽¹⁴⁾.

Como resumen, en la figura 1 se muestra un algoritmo para establecer el diagnóstico diferencial de la AHAI.

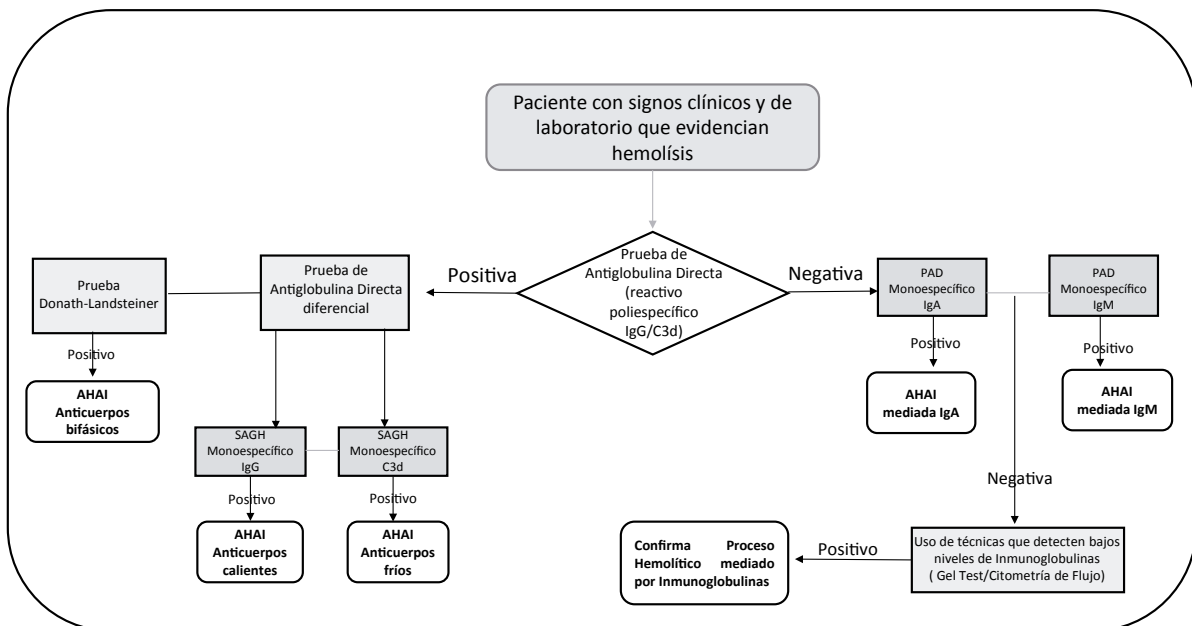


Figura 1. Diagnóstico Inmuno-hematológico Diferencial de AHAI. Fig: elaboración propia.

Tratamiento

Antes de la aparición de los corticoides la AHAI se trataba exclusivamente con terapia de transfusión sanguínea y procedimiento de esplenectomía⁽¹⁸⁾. Hoy en día, la transfusión debe ser evitada, en lo posible, dado que hay un riesgo significativo para la formación de aloanticuerpos y además, la hemólisis en curso puede ser agravada por la transfusión, ya que los auto-anticuerpos también reaccionan con los glóbulos rojos transfundidos^(23,43). Los tratamientos actuales buscan detener o atenuar el proceso hemolítico a través de la inhibición de la producción de autoanticuerpos y/o inhibición de la destrucción de glóbulos rojos. La disponibilidad de terapias que tienen como blanco a las células B cuestiona la importancia de la esplenectomía. Los estudios que evalúan la eficacia de tratamientos son escasos, ya que la AHAI es una enfermedad infrecuente y afecta a una población heterogénea de pacientes. Además, la interpretación de la eficacia del tratamiento es difícil, al no haber definiciones uniformes para la respuesta a la terapia, ya sea una remisión completa o parcial⁽³⁶⁾. El tratamiento específico de las AHAI varía según el origen idiopático o secundario de la enfermedad y el tipo de autoanticuerpo presente.

Tratamiento AHAI por anticuerpos de tipo IgG: la terapia en este tipo de anemia va a depender de la severidad de la enfermedad:

Tratamiento de primera línea. Corticoides: se emplean cuando el grado de hemólisis es tal que la anemia es considerable. El más comúnmente usado es la prednisona. Con su uso se obtiene remisión parcial en el 60 al 70% de los pacientes y completa en un 10 a 15%⁽²³⁾. Su mecanismo de acción se relaciona con la disminución en la producción de auto-anticuerpos por las células B así como la reducción de la densidad de receptores Fc-gamma de los fagocitos. Una respuesta satisfactoria a este tratamiento por lo general ocurre a los 4-7 días de iniciar el tratamiento, observándose un lento incremento en el nivel de hemoglobina de 2-3 g/dL por semana. Cuando se logra niveles de hemoglobina de 10 g/dL en el paciente, se comienza a reducir lentamente la dosis de los corticoides⁽¹⁸⁾. Si no hay remisión con los corticoides, o causan efectos secundarios (alteran los niveles de colesterol, hiperglucemia, hipertensión, glaucoma, osteoporosis, entre otras), se realiza tratamiento de segunda línea.

Tratamiento de segunda línea: esplenectomía, anti-

cuerpos monoclonales anti CD20 y fármacos citotóxicos^(44,45).

Esplenectomía: tratamiento de segunda línea de preferencia en pacientes con resistencia a tratamientos de primera línea, por su eficacia a corto plazo y la buena tasa de respuesta inicial. Diferentes estudios muestran una respuesta al procedimiento bastante variable, ya que no hay estudios que demuestren predictores de resultado confiables para este tratamiento^(18,46). Además, la esplenectomía puede estar asociada a complicaciones de tipo quirúrgicas, infecciones, tromboembolismo, hipertensión pulmonar y muerte en algunos casos^(36,47).

Anticuerpos monoclonales anti CD20

Rituximab: corresponde a un anticuerpo quimérico monoclonal anti CD20, molécula expresada en todas las células B. Su administración disminuye la producción de autoanticuerpos mediante una destrucción selectiva de estas células. La eficacia de rituximab en AHAI por IgG es difícil de evaluar debido a la considerable falta de estudios prospectivos controlados. Sin embargo, en estudios retrospectivos se reportan remisiones completas en 20 a 70% de los pacientes⁽⁴⁸⁾. Hoy en día se le considera como el sustituto a la esplenectomía cuando un paciente es resistente a los corticoides^(49,50). El rituximab es bien tolerado, pero pueden aparecer reacciones, escalofríos e hipotensión, y se ha reportado que puede causar una complicación muy rara, pero fatal, leucoencefalopatía multifocal progresiva después de su administración^(51,52,53).

Obinutuzumab: anticuerpo monoclonal tipo 2 contra CD20. Es un IgG1 que reconoce un epítipo único, y se ha demostrado mejor capacidad de unión a linfocitos B que rituximab, reduciendo el riesgo de modulación antigénica por aumento de la depleción de células B⁽⁴⁵⁾.

Ofatumumab: se une con mayor afinidad a un epítipo distinto en la molécula CD20 y da como resultado una mayor citotoxicidad dependiente del complemento y, por lo tanto, un agotamiento más eficaz de las células B. Su característica estructural le permite unirse a CD20 en la proximidad más cercana a la superficie de la membrana celular. Esta característica, además de una unión más ávida a C1q y un impacto aparentemente reducido de las proteínas reguladoras del complemento, contribuye a que ofatumumab se ha considerado superior en comparación con rituximab, sumado a una tasa de disociación más lenta

con una vida media de tres horas^(45,54,55).

Fármacos citotóxicos: la azatioprina y la ciclofosfamida son los fármacos más utilizados de esta categoría. Su mecanismo de acción es disminuir la producción de autoanticuerpos, mediante un efecto mielosupresor, por lo que su uso tiene además efectos periféricos, como la disminución en el recuento de células sanguíneas, debiendo administrarse junto a un quimio protector (Mesna) y G-CSF para obtener un tratamiento exitoso⁽⁵⁶⁾. Puede ser administrado como monoterapia o en combinación con corticoides. También se han descrito casos con el uso de vincristina como alternativa valiosa, ya que tiene la ventaja de ser menos mielotóxica que la ciclofosfamida⁽⁵⁷⁾. Otros medicamentos inmunosupresores, como la ciclosporina o micofenolato mofetil parecen ser eficaces en algunos casos⁽⁵⁸⁾. El danazol, esteroide sintético derivado de la etiniltestosterona, con propiedades antiestrogénicas y débilmente androgénicas y reduce de forma significativa los niveles de IgG, IgM e IgA. Ha demostrado resultados variables en el tratamiento de la AHAI⁽¹⁰⁾.

Otros tratamientos. *Alemtuzumab*: es un anticuerpo IgG monoclonal dirigido contra el CD52, molécula presente en la membrana de linfocitos B y linfocitos T. Se ha utilizado en casos de AHAI con refractariedad a tratamientos con corticoides, esplenectomía y rituximab⁽⁵⁹⁾. Sin embargo, debido a su alta toxicidad se considera una opción de "último recurso" para tratar esta patología⁽³⁶⁾.

Terapia transfusional en pacientes con AHAI: la terapia transfusional en pacientes con AHAI mediada por anticuerpos calientes presenta un problema clínico importante debido a la dificultad en obtener unidades de sangre compatible, por lo que debería ser evitada. Sin embargo, en pacientes con niveles peligrosamente bajos de hemoglobina, se puede considerar la transfusión, como tratamiento complementario, hasta que se logre una respuesta a los medicamentos⁽²³⁾. El requisito mínimo es que los glóbulos rojos seleccionados deben ser compatibles para sistema ABO, los 5 antígenos mayores del sistema Rh y antígeno Kell. Y en caso de que el paciente presente además un aloanticuerpo identificado, deben carecer también del antígeno al cual está dirigido⁽⁶⁰⁾. Igualmente la prueba cruzada dará positiva, por lo que se considera la premisa "tan compatibles como los propios"⁽³⁷⁾. Desde el punto de vista de la administración, esta debe realizarse a

una velocidad de infusión lenta, considerando que células transfundidas serán destruidas al mismo ritmo que las células propias del receptor^(36,61).

Tratamiento AHAI por anticuerpos de tipo IgM: la AHAI producida por anticuerpos fríos es de afectación crónica, por lo que la terapia adecuada puede requerir sólo que el paciente evite las temperaturas bajas. En los pacientes en que el cuadro es grave, la terapia se dirige a reducir la producción de anticuerpos por medio de inmunosupresión, ya que el uso de corticoides o la esplenectomía, no han mostrado resultados favorables^(62,63).

Tratamiento con clorambucil: agente citotóxico utilizado en casos de hemólisis grave. La eficacia de este medicamento en términos de un aumento en el nivel de hemoglobina, es más bien baja⁽⁶⁴⁾.

Tratamiento con eculizumab: corresponde a un anticuerpo monoclonal que impide la división de C5, previniendo los efectos citotóxicos y proinflamatorios de la activación del complemento, como también la disminución de la hemólisis intravascular, lo que mejora la condición del paciente⁽⁶³⁾. Este medicamento está aprobado para las indicaciones de hemoglobinuria paroxística nocturna y síndrome urémico hemolítico; no obstante también se está administrando a pacientes con anemia por anticuerpos fríos, como tratamiento de segunda línea^(65,66).

Tratamiento con rituximab: este medicamento tiene documentada una eficacia a corto plazo. En un estudio realizado por Berentsen y col⁽⁶²⁾, la tasa de respuesta de rituximab en AHAI por anticuerpos fríos fue del 60%. En cuanto a efectos secundarios del medicamento, no hay variación respecto a los demostrados en AHAI por anticuerpos calientes, pero no cabe duda de que el beneficio a corto plazo versus el riesgo al tratamiento con rituximab, lo posiciona como la mejor opción para los pacientes en los que no se pueden realizar la esplenectomía o bien se niegan a ella⁽⁶⁷⁾. Resultados similares fueron obtenidos por Schollkopf y col, en 2006⁽⁶⁸⁾.

Terapia transfusional en pacientes con anticuerpos de tipo IgM: la terapia transfusional generalmente no se necesita para pacientes con hemólisis mediada por anticuerpos fríos. Sin embargo, cuando las transfusiones son necesarias, todas las pruebas pretransfusionales deben realizarse a 37 °C, para minimizar los efectos de los anticuerpos fríos y permitir la detección de aloanticuerpos⁽³⁶⁾.

Tratamiento AHAI producida por drogas: la medida más importante para el tratamiento de estas anemias hemolíticas es la interrupción de la droga, mientras que el laboratorio realiza las pruebas serológicas para establecer el diagnóstico definitivo⁽⁶²⁾. La hemólisis disminuirá dependiendo del mecanismo de acción de la droga, pudiendo ser rápida (complejo inmunitario), o dependiente de la concentración de droga en el plasma (tipo hapteno), y paulatina en el caso de producción de autoanticuerpos, ya que el fármaco no necesita estar presente para que el anticuerpo se una a los glóbulos rojos. Es de destacar que la PAD puede permanecer positiva durante muchos meses⁽²⁹⁾.

Conclusión

En el diagnóstico de la anemia hemolítica autoinmune debe haber una sinergia entre la clínica, los

hallazgos de laboratorio que evidencien hemólisis y las pruebas inmunológicas. El fundamento del test anti globulina, con innovación en técnicas para su realización, es la principal prueba para su estudio, lo que confirma su eficacia.

En el tratamiento, si bien el foco inicial de las terapias fue corregir la anemia y disminuir la hemólisis por medio del uso de corticoides, transfusión y esplenectomía, la presencia de aloanticuerpos concomitantes con los autoanticuerpos y el riesgo a infecciones de los pacientes esplenectomizados hacen que el uso de la transfusión sanguínea y la esplenectomía sea hoy en día controvertida. Los corticoides siguen siendo el tratamiento de primera línea y surgen pautas de tratamientos avaladas por estudios de casos, que muestran la efectividad de los anticuerpos monoclonales anti CD20, transformándolos en agentes terapéuticos de segunda línea.

Conflictos de interés: Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

1. Lichtman MA, *Williams Hematology*. 7^{ma} ed. New York: McGraw-Hill, 2006.
2. Palomo I, Vásquez M, Armanet L. Anemias hemolíticas. In: Palomo I, Pereira J, Palma J, editors. Hematología, fisiopatología y diagnóstico. 1^a ed. Talca: Universidad de Talca, 2005.
3. Das S, Chakrabarty R, Zaman R. Immunohematological and clinical characterizations of mixed autoimmune hemolytic anemia. *Asian J Transfus Sci*. 2018;12: 99-104. https://doi.org/10.4103/ajts.AJTS_105_17
4. Valent P, Lechner K. Diagnosis and treatment of autoimmune haemolytic anaemias in adults: a clinical review. *Wien. Klin. Wochenschr*; 2008; 120:136-51. <https://doi.org/10.1007/500508-008-0945-1>.
5. Barcellini W. Immune hemolysis: diagnosis and treatment recommendations. *Semin Hematol*. 2015;52:304-12. <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2015.05.001>
6. Li BJ, Yuan X, Jiang YJ, Ning-Li, Shu XW, Liu KL. Retrospective analysis of 30 severe autoimmune hemolytic anemia patients treated by whole blood exchange transfusion. *Transfusion*. 2015; 55: 2231-7. <https://doi.org/10.1111/trf.13122>.
7. Rigal D, Meyer F. Anémies hémolytiques auto-immunes: diagnostic biologique et nouvelles approches thérapeutiques. *Transfusion Clinique et Biologique*. 2011; 18: 277- 85. <https://doi.org/10.1016/j.tracli.2011.03.002>.
8. Eaton W, Rose N, Kalaydjian A, Pedersen M, Mortensen P. Epidemiology of autoimmune diseases in Denmark. *J Autoimmun*. 2007;29:1-9. <https://doi.org/10.1016/j.aut.2007.05.002>.
9. López M. Anemias hemolíticas autoinmunes. *Rev Medicina General y de la familia*. 2010;127:186-91.
10. Alfonso, M. Bencomo. Tratamiento de las anemias hemolíticas autoinmunes. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*. 2013;29(4):327-39.
11. Clinton J. Síndrome de anemia hemolítica. (Revisión bibliográfica). *Rev Médica de Costa Rica y Centroamérica*. 2008. LXV (583) 85-90.
12. Zantek N, Koepsell S, Tharp Jr D and Cohn C. The direct antiglobulin test: A critical step in the evaluation of hemolysis. *Am J Hematol*. 2012. 87:707-9. <https://doi.org/10.1002/ajh.23218>.
13. Fayek MH, Saad AA, Eissa DG, Tawfik LM, Kamal G. Role of gel test and flow cytometry in diagnosis of Coombs' negative autoimmune haemolytic anaemia. *Int J Lab Hematol*. 2012;34:311-9. <https://doi.org/10.1111/j.1751-553X.2011.01397>.
14. Bloch M, Sakac D, Branch H, Cserti-Gazdewich C, Pendergrast J, Pavenski K et al. Western immunoblot

- ting as a new tool for investigating direct antiglobulin test-negative autoimmune hemolytic anemias. *Transfusion*. 2015;55:1529-37. <https://doi.org/10.1111/trf.13082>.
15. Jaime-Pérez J, Almaguer-Gaona C. Rediscovering the Coombs test. *Medicina Universitaria*. 2016;18:185-6. <https://doi.org/10.1016/j.rmu.2016.07.001>.
 16. Arndt P, Leger R, Garratty G. Serologic findings in autoimmune hemolytic anemia associated with immunoglobulin M warm autoantibodies. *Transfusion*. 2009; 49:235-42. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2008.0195>.
 17. Alfonso M, Bencomo A, Espinoza E, Guerrero R, Guerra E et al. Caracterización de pacientes adultos con anemia hemolítica autoinmune atendidos en instituto de hematología e inmunología. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*. 2009; 25: 45-5.
 18. Crowther M, Chan YL, Garbett IK, Lim W, Vickers MA, Crowther MA. Evidence based focused review of the treatment of idiopathic warm immune hemolytic anemia in adults. *Blood*. 2011;118: 4036-40. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-05-347708>.
 19. Diagnóstico. Anemia hemolítica autoinmune, <http://www.fihu-diagnostico.org.pe/revista/numeros/2005/jul-set05/141-144.html>; 2005 [consultada el 12 de marzo de 2019)].
 20. DeLoughery T. Immune Hemolytic Anemia, Hospital Physician Board Review Manual. *Hematology*. 2013; 8. [consultada el 18 de mayo de 2019)].
 21. Berentsen S, Sundic T, Hervig G, Tjønnfjord E. Autoimmun hemolytisk anemi. *Medsin Og Vitenskap. Tidsskr Nor Legeforen*. 2009;21:2226-31. <https://doi.org/10.4045/tidsskr.09.0161>.
 22. Obstetrics and Gynecology. A Case of Pregnancy Complicated with Evans Syndrome with Sequential Development of Autoimmune Warm Antibody Hemolytic Anemia and Idiopathic Thrombocytopenic Purpura, <https://www.hindawi.com/journals/crlog/2019/2093612/>; 2019 [consultada el 12 de marzo de 2019)].
 23. Zeerleder S. Autoimmune haemolytic anaemia - a practical guide to cope with a diagnostic and therapeutic challenge. *Journal of Medicine*. 2011;69:177-84.
 24. Vásquez M, Maldonado M. Sistemas sanguíneos eritrocitarios de importancia clínica. 1ª Ed. Talca. Universidad de Talca. 2013.
 25. Marinovic MA. Immunodeficiencies and their relation with autoimmune diseases. *Rev Med Clin Condes*. 2012;23(4):484-91.
 26. Hill A, Hill QA. Autoimmune hemolytic anemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2018; 30: 328-89. <https://doi.org/10.1182/asheducation-2018.1.382>.
 27. Quintanilla J, Marchena M, Gourzong C. Síndrome de aglutininas frías. *Acta Med costarric*. 2004;46: 204-7.
 28. Salama A. Drug-induced immune hemolytic anemia. *Expert Opin Drug Saf*. 2009; 8:73-9. <https://doi.org/10.1517/14740330802577351>.
 29. Encyclopedia of life sciences. Immune Haemolytic Anaemia, http://www.roitt.com/elspdf/Immune_Haemolytic_Anaemia.pdf; 2005 [consultada el 12 de marzo de 2019].
 30. Garratty G. Drug-induced immune hemolytic anemia. *American Society of Hematology*. 2009;1: 73 -9. <https://doi.org/10.1182/asheducation-2009.1.73>.
 31. Johnson S, Fueger J, Gottschall J. One center's experience: the serology and drugs associated with drug-induced immune hemolytic anemia - a new paradigm. *Transfusion*. 2007; 47:697-702. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2007.01173>
 32. Revista O.F.I.L Farmacovigilancia intensiva: Detección de anemia hemolítica inducida por cefalosporinas, <http://www.revistadelaofil.org/wp-content/uploads/2014/01/OFILn14.pdf>; 2004 [consultada el 12 de marzo de 2019].
 33. Spath P, Garratty G, Petz L. Studies on the immune response to penicillin and cephalothin in humans. II. Immunohematologic reactions to cephalothin administration. *J Immunol*. 1971;107:860-9.
 34. Wouters D, Zeerleder S. Complement inhibitors to treat Ig M mediated autoimmune hemolysis. *Haematologica*. 2015;100:1388-95. <https://doi.org/10.3324/haematol.2015.128538>.
 35. Lobuglio A, Cotran R, Jandl J. Red cells coated with immunoglobulin G: binding and sphering by mononuclear cells in man. *Science*. 1967;158:2-5. <https://doi.org/10.1126/science.158.3808.1582>.
 36. Go RS, Winters JL, Kay NE. How I treat autoimmune hemolytic anemias. *Blood*. 2017;129:2971-9. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-11-693689>.
 37. Segel GB, Lichtman MA. Direct antiglobulin ("Coombs") test-negative autoimmune hemolytic anemia: a review. *Blood Cells Mol Dis*. 2014;52:152-60. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2013.12.003>.
 38. Garratty G. Immune hemolytic anemia associated with negative routine serology, *Semin Hematol*. 2005;

42:156-64.

39. Bajpayee A, Dubey A, Verma RK, Chaudhary. A report of a rare case of autoimmune haemolytic anaemia in a patient with Hodgkin's disease in whom routine serology was negative. *Blood Transfus.* 2013;12:299-301 <https://doi.org/10.2450/2013.0292-12>.
40. Meulenbroek E, Wouters D, Zeerleder S. Lyse or not to lyse: Clinical significance of red blood cell autoantibodies. *Blood Reviews.* 2015;29:369-76. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2015.05.001>.
41. Thedsawad AO, Taka W, Wanachiwanawin. Development of flow cytometry for detection and quantitation of red cell bound immunoglobulin G in autoimmune hemolytic anemia with negative direct Coombs test. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2011; 29: 364-7.
42. Chaudhary R, Das S, Gupta R and Khetan D. Application of flow cytometry in detection of red cell bound IgG in Coombs negative AIHA. *Hematology.* 2006;11: 295-300 <https://doi.org/10.1080/10245330600915958>.
43. Garratty G. The James Blundell Award Lecture 2007: do we really understand immune red cell destruction? *Transfus Med.* 2008;18:321-34. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3148.2008.00891>.
44. Thomsen R, Schoonen W, Farkas D, Riis A, Fryzek J, Sorensen T. Risk of venous thromboembolism in splenectomized patients compared with the general population and appendectomized patients: a 10-year nationwide cohort study. *J Thromb Haemost.* 2010;8:1413-6. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2010.03849>.
45. Casan J, Wonga M, Northcottb J and Opat S. Anti-CD20 monoclonal antibodies: reviewing a revolution. *Human Vaccines & Immunotherapeutics.* 2018;14: 2820-41. <https://doi.org/10.1080/21645515.2018.1508624>.
46. Zanella A, Barcellini W. Treatment of autoimmune hemolytic anemias. *Haematologica.* 2014;99:1547-54. <https://doi.org/10.3324/haematol.2014.114561>,
47. Yong M, Thomsen R, Schoonen W, Farkas D, Riis A, Fryzek J et al. Mortality risk in splenectomised patients: a Danish population-based cohort study. *Eur J Intern Med.* 2010;21:12-6. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2009.10.003>.
48. D'Arena G, Califano C, Annunziata M, Tartarone A, Capalbo S, Villani O et al. Rituximab for warm-type idiopathic autoimmune hemolytic anemia: a retrospective study of 11 adult patients. *Eur J Haematol.* 2007;79:53-8. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0609.2007.00861.x>
49. Dierickx D, Verhoef G, Van Hoof A, Mineur P, Roest A, Triffel A et al. Rituximab in auto-immune haemolytic anaemia and immune thrombocytopenic purpura: a Belgian retrospective multicentric study. *J Intern Med.* 2009; 266:484-91. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2009.02126>.
50. Koppel A, Lim S, Osby M, Garratty G, Goldinfinger D. Rituximab as successful therapy in a patient with refractory paroxysmal cold hemoglobinuria. *Transfusion.* 2007;47:1902-4. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2007.01414>.
51. Garvey B. Rituximab in the treatment of autoimmune haematological disorders. *Br J Haematol.* 2008;141:149-69. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2008.07054>.
52. Fozza C, Longinotti M. Use of Rituximab in Autoimmune Hemolytic Anemia Associated with Non-Hodgkin Lymphomas. *Hindawi Publishing Corporation Advances in Hematology.* 2011; htt1-4 <https://doi.org/10.1155/2011/960137>.
53. Peñalver F, Alvarez-Larrán A, Díez-Martin J, Gallur L, Jarque I, Caballero D et al. Rituximab is an effective and safe therapeutic alternative in adults with refractory and severe autoimmune hemolytic anemia. *Ann Hematol.* 2010;89:1073-80. <https://doi.org/10.1007/s00277-010-0997>.
54. Karageorgas T Zomas A, Kazakou P, Katsimbri P, Mantzourani M, Boumpas D. Successful treatment of life-threatening autoimmune haemolytic anaemia with ofatumumab in a patient with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology.* 2016; 11:2085-7. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kew267>.
55. Payandeh Z, Rajabibazl M, Mortazavi Y, Rahimpour A, Taromchi AH, Dastmalchi S. Affinity maturation and characterization of the ofatumumab monoclonal antibody. *J Cell Biochem.* 2019; 120: 940-50. <https://doi.org/10.1002/jcb.27457>.
56. Moyo VM, Smith D, Brodsky I, Crilley P, Jones Rj, Brodsky R. High-dose cyclophosphamide for refractory autoimmune hemolytic anemia. *Blood.* 2002;100: 704-6. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-01-0087>.
57. Shvidel L, Sigler E, Shtalrid M, Berrebi A. Vincristine-loaded platelet infusion for treatment of refractory autoimmune hemolytic anemia and chronic immune thrombocytopenia: rethinking old cures. *Am J Hematol.* 2006;81:423-5. <https://doi.org/10.1002/ajh.20632>.
58. Howard J, Hoffbrand A, Prentice H. Mycophenolate mofetil for the treatment of refractory auto-immune haemolytic anaemia and auto-immune thrombocytopenia purpura. *Br J Haematol.* 2002;117:712-5.

59. Karlsson C, Hansson L, Celsing F, Lundin J. Treatment of severe refractory autoimmune hemolytic anemia in B-cell chronic lymphocytic leukemia with alemtuzumab (humanized CD52 monoclonal antibody). *Leukemia*. 2007; 21:511-4.
60. Alcaraz J. Abordaje del laboratorio de anemia hemolítica autoinmune (AHAI). *Rev Mex Med Transf*. 2009; 2:57-9. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2404512>.
61. Barros M, Langhi D, Bordin J. Autoimmune hemolytic anemia: transfusion challenges and solutions. *Int J Clin Transfusion Medicine*. 2017;5. <https://doi.org/10.2147/IJCTM.S81870>.
62. Berentsen S, Ulvestad E, Langholm R, Beiske K, Hansen H, Ghanima W, Sorbo J. Primary chronic cold agglutinin disease: a population based clinical study of 86 patients. *Haematologica*. 2006;91:460-6. <https://doi.org/10.1080/10245330701445392>.
63. Seok J, Wook J, Kook B, Chung J. The use of the complement inhibitor eculizumab (Soliris®) treating Korean patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *The Korean J Hematol*. 2010;45: 269-74. <https://doi.org/10.5045/kjh.2010.45.4.269>.
64. Cançado RD, Langhi Jr DM, Chiattonne CS. Tratamento da anemia hemolítica auto-imune. *Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo*. 2004;50:56-60.
65. Nilsson P, Thomas A, Bergsethd G, Gustavsen A, Volokhinae E, van del Heuvel L et al. Eculizumab-C5 complexes express a C5a neoepitope in vivo: Consequences for interpretation of patient complement analyses. *Molecular Immunology*. 2017; 80:111-4. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2017.05.021>.
66. Castaneda-Sanabria J, Hajage D, Le Jouan M, Perozziello A, Tubach F. Off-label use of the expensive orphan drug eculizumab in France 2009-2013 and the impact of literature: focus on the transplantation field. *Eur J Clin Pharmacol*. 2016; 72:737-46 <https://doi.org/10.1007/s00228-016-2027>.
67. Tanaka H, Hashimoto S, Sugita Y, Sakai S, Takeda Y, Abe D et al. Occurrence of lymphoplasmacytic lymphoma 6 years after amelioration of primary cold agglutinin disease by rituximab therapy. *Int J Hematol*. 2012; 96:501-5. <https://doi.org/10.1007/s12185-012-1158-y>.
68. Schollkopf C, Kjeldsen L, Bjerrum O. Rituximab in chronic cold agglutinin disease: a prospective study of 20 patients. *Leuk Lymphoma*. 2006;47:253-60. <https://doi.org/10.1007/s12185-012-1158-y>.



Atribución – No Comercial – Compartir Igual (by-nc-sa): No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original. Esta licencia no es una licencia libre.

Células de tipo Sézary en leucemia/linfoma T del adulto

Adult T cell leukemia-lymphoma associated with HTLV-1 infection

Caballero D¹, Rapan L¹, Vallejo RE², De la Hoz C¹, Mejía M¹, Kohan D³, Iastrebner M¹.

¹ Sanatorio Sagrado Corazón. Buenos Aires, Argentina.

² Hospital Español de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.

³ Laboratorio Citomlab. Buenos Aires, Argentina.

danaycaballero@outlook.com

Fecha recepción: 05/11/2019

Fecha aprobación: 31/3/2020



CASO CLÍNICO

HEMATOLOGÍA

Volumen 24 N° 1: 81-85

Enero - Abril 2020

Palabras claves: Leucemia Linfoma T, Virus HTLV-1, Criptococosis.

Keywords: T cell leukemia-lymphoma, human T-lymphotropic virus type I (HTLV-1), cryptococcosis.

Introducción

La leucemia/linfoma T del adulto (LLTA) es un sub-tipo de neoplasia de células T periféricas que deriva de linfocitos T CD4 infectados por el virus linfotrópico humano de células T tipo 1 (HTLV1)⁽¹⁻³⁾. Fue descrita por primera vez en Japón en 1977 y se caracteriza por su mal pronóstico⁽⁴⁾.

El HTLV1 fue el primer retrovirus descrito en 1980 en un paciente con linfoma cutáneo T. Existen entre 10 y 20 millones de personas afectadas en el mundo, aumentando la prevalencia en zonas endémicas hasta un 15%, como es el caso de Japón, África, Melanesia e Islas Seychelles. En Latinoamérica y Argentina, donde también es endémico, la prevalencia es del 5%⁽⁴⁾. Por lo general la infección es asintomática y sólo un 3-5% de las personas infectadas desarrollan LLTA⁽⁵⁻⁶⁾. Se transmite por contacto sexual, vía parenteral y de madre a hijo en etapa perinatal y de lactancia materna⁽⁴⁾. El período de la-

tencia de la infección es de 20 a 50 años, variando según la región geográfica, con un promedio de 40 años en Sudamérica^(1,4,6,7). El HTLV1 conduce a la transformación clonal y a la expansión de células T activadas CD4 y CD25 positivas, constituyendo el primer evento de un fenómeno de pasos múltiples en el proceso de leucemogénesis, en el que también participan factores epigenéticos y genéticos constitucionales o adquiridos^(1,5).

Se presenta el caso de un varón con LLTA e infección con HTLV1 que expone dificultades diagnósticas por una morfología inhabitual.

Caso clínico

Varón de 53 años, de Misiones, al que, por presentar lesiones máculo papulares y nódulos hiperpigmentados en piel, se le realizó biopsia un mes previo a la consulta, arrojando el diagnóstico de linfoma T CD4+ de células pequeñas y medianas, con mi-

cosis fungoide como diagnóstico diferencial. Se internó por síndrome confusional, pérdida de peso y progresión de las lesiones cutáneas. El laboratorio evidenció Hb: 15,2 gr/dL, leucocitos 46.530/mm³, linfocitos 5.200/mm³, plaquetas 374.000/mm³, creatinina 1,6 mg/dL, calcemia 16,4 mg/dL, LDH 386 U/L. HIV no reactivo. RMN y estudio del LCR normales. TC de tórax y abdomen: imagen lítica en rama isquiopubiana izquierda. Frotis de sangre periférica: 12% de linfocitos con núcleo cerebriforme. Medulograma: 6% de linfocitos de tamaño mediano a pequeño con núcleo cerebriforme (Figura 1).

Citometría de flujo (CMF) de médula ósea (MO): 21% linfocitos T de fenotipo maduro y patológico CD4+, CD3s-, CD3c+ binodal, CD8-, CD5+, CD7+ homogéneo, CD2+int, CD16-, CD56-, CD26-, CD38+/- heterogéneo. Anatomía patológica de MO: infiltración por linfoma T (Figuras 2 y 3).

La inmunohistoquímica marcaba el CD3+ 15% (Figura 4).

Rearreglo del receptor de células T (TCR) positivo. La hipercalcemia fue tratada, con mejoría del cuadro neurológico. Se le inició corticoterapia en plan de quimioterapia (QT).

Evolucionó con deterioro del sensorio, cefalea y diplopía. LCR: GB 16/mm³, 80% mononucleares, glucosa 39 mg/dL, proteínas 170 mg/dL, tinta china positiva, antígeno criptococo positivo. Hemocultivos: *Criptococo neoformans grubii*. La criptococosis fue tratada con anfotericina B y fluconazol. Luego de la mejoría infectológica inició QT con esquema CHOP. Presentó un segundo episodio de

criptococosis meníngea luego del primer ciclo de QT. Se evidenciaron células T patológicas CD4+ en un nuevo estudio del LCR, con RMN normal, por lo que se interpretó como compromiso leptomeníngeo por linfoma. Por presentar infecciones oportunistas recurrentes se revaluó el diagnóstico: serología HTLV1 positiva. CMF de SP: CD25 positivo. Se concluyó el diagnóstico de LLTA asociado a HTLV1, con morfología tipo Sézary. Continuó esquema CHOP y QT intratecal con respuesta parcial luego de tercer ciclo. Falleció por neumonía grave y progresión de enfermedad antes de completar el sexto ciclo.

Discusión

El diagnóstico de LLAT se basa en la presentación clínica, la morfología y el inmunofenotipo de las células malignas, debiendo confirmarse en todos los casos la infección por el retrovirus HTLV1. Debido a su baja prevalencia se requiere un alto índice de sospecha. El 60-80% de los pacientes presenta hipercalcemia como fenómeno paraneoplásico y las infecciones oportunistas, como la neumonía por *Pneumocystis*, la estrongiloidosis maligna y la criptococosis diseminada, son frecuentes^(3,7). La OMS reconoce 4 subtipos de LLAT (Tabla 1) con las principales características que las distinguen^(1-3,7,8).

La forma crónica se divide en favorable y desfavorable, con una media de supervivencia de 2 a 5 años en el primer grupo y de sólo meses en el segundo. Se consideran desfavorables los pacientes que tienen uno de los siguientes factores: albúmina baja,

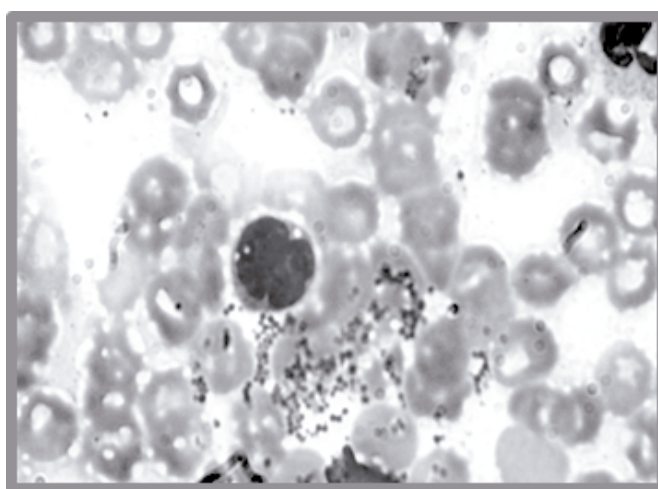
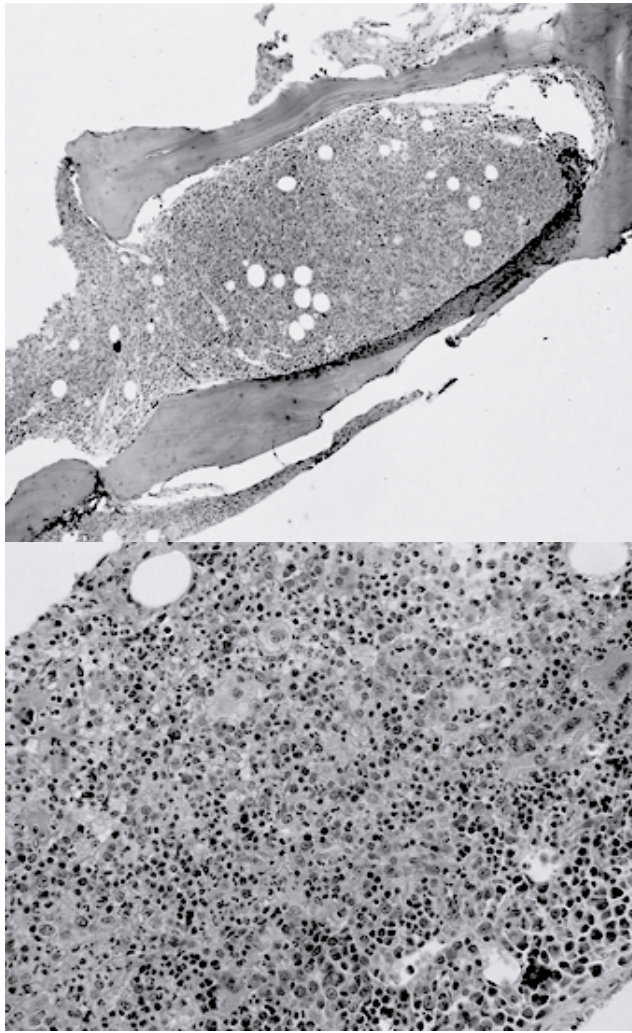


Figura 1. Linfocito con núcleo de aspecto cerebriforme en medulograma. May Grunwald Giemsa, 100x.



Figuras 2 y 3. Anatomía patológica de médula ósea. HE, 4x y 10x.

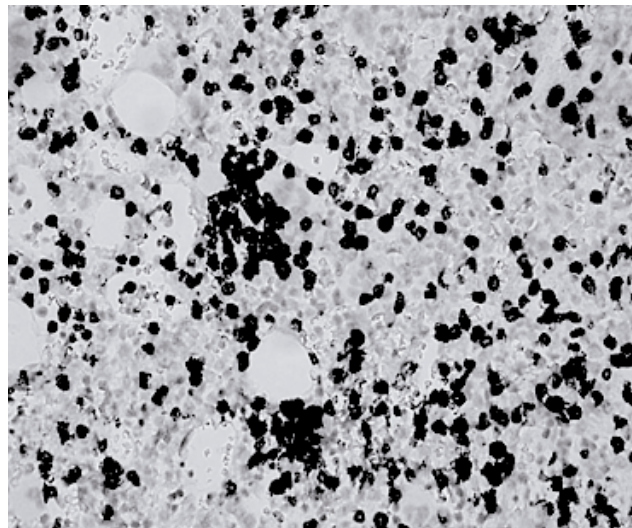


Figura 4. Inmunohistoquímica CD3 en biopsia de médula ósea.

Tabla 1. Clasificación de Shimoyama de LLTA

Forma indolente: menos frecuente, por lo general asintomática o con lesiones cutáneas o pulmonares, GB normales, linfocitos patológicos < 5%, sin hipercalcemia.
Forma crónica: 10% de los casos, con lesiones cutáneas, linfadenopatías pequeñas y linfocitosis absoluta. LDH normal o con elevación menor al 50%.
Leucemia aguda: 60% de los casos, con síntomas sistémicos, hepatoesplenomegalia, linfadenopatía, LDH elevada y linfocitos patológicos en SP > 1%. Supervivencia de meses a pesar de QT y TALO. Son frecuentes las lesiones líticas óseas, lesiones en piel similares a micosis fungoide e infiltración de órganos como el SNC. Frecuente la hiperleucocitosis < 100.000/microL.
Linfoma agudo: 20% de los casos, con linfadenopatías, linfocitos patológicos SP < 1%. Es menos frecuente la hipercalcemia, las lesiones cutáneas y la hepatoesplenomegalia que en las formas agudas. Por lo general las adenopatías respetan el mediastino.

LDH o BUN elevados. Además se han propuesto la presencia de neutrofilia, más de 3 sitios extra-nodales, haber recibido QT y un índice de proliferación medido por Ki67 alto como factores de mal pronóstico. Es de señalar que, aun en presencia de masas ganglionares voluminosas, tener más de 1% de células circulantes catalogaría al paciente como portador de leucemia aguda. Por otro lado, si no hay compromiso histológico de órganos demostrado, se requiere al menos un 5% de células leucémicas circulantes para el diagnóstico de LLAT^(3,7,8).

Morfológicamente se reconocen 5 variantes, aunque la más característica, conocida como en forma de trébol o en flor, se ha considerado patognomónica y presenta núcleos polilobulados, cromatina homogénea y condensada, nucléolos pequeños o ausentes y citoplasma basófilo agranular. Las otras variantes incluyen la forma de células grandes, de células angioinmunoblásticas, de células anaplásicas y la menos descrita en la literatura que es la de células tipo Sézary^(1,5,7).

Por inmunomarcación las células expresan marcadores de linfocitos T como el CD2, CD4 y CD5, así como CD45RO, CD29 y TCR alfa/beta; siendo negativos para el CD7, CD8 y CD26. Es característica la disminución de la expresión de CD3. Los marcadores de activación como HLA-DP, DQ, DR e IL2 alfa (CD25) son positivos, típicamente con ausencia de deoxinucleotidil transferasa. El panel mínimo para el diagnóstico debe incluir el CD3, CD4, CD7, CD8 y CD25. El cariotipo suele mostrar múltiples alteraciones inespecíficas que incluyen la trisomía 3, trisomía 7, la pérdida del cromosoma X y las alteraciones de cromosomas 6 y 14^(6,7).

Las células leucémicas de LLTA son clonales y

albergan ADN proviral en sitios aleatorios de integración cromosómica⁽²⁾. Se desconoce el mecanismo por el cual el HTLV1 conduce al desarrollo del tumor, sugiriéndose que la oncoproteína Tax y la proteína HBZ juegan un rol esencial^(2,5,7,8). Tax es un activador potente de la transcripción y la señalización, al actuar sobre vías como NFκB, que es un factor transcripcional dependiente de AMPc; además, la proteína Tax conduce a la represión de TP53 y disrupción de reguladores del ciclo celular, como las ciclinas e inhibidores de ciclinas dependientes de quinasas^(5,7). La proteína HBZ evidencia la expresión génica de HTLV1, con un papel central en la leucemogénesis; así su expresión se correlaciona con la carga del provirus⁽⁷⁾. Las células neoplásicas en la LLAT pierden la expresión de la proteína Tax, asumiéndose que el efecto oncogénico de ésta ocurre en estadios tempranos de la enfermedad, siendo la proteína HBZ la encargada de perpetuar el proceso neoplásico⁽⁵⁾. Por otro lado, la secuenciación del genoma en pacientes con LLAT reveló mutaciones recurrentes de genes como el *PLCG1*, *PRKCB*, *CARD11*, *VAV1* e *IRF4*, que participan en la señalización del receptor de células T y conducen también a la activación de NFκB, vía crucial en la patogénesis de la enfermedad. Otras alteraciones encontradas incluyen las mutaciones del gen *RHOA*, del regulador epigenético *TET2* y de microRNA. Se plantea que la infección por el HTLV1 influye en la leucemogénesis a través de mutaciones o deleciones de *TP53*, *TP15* o *TP16* presentes en el 30-50% de los pacientes^(2,5,7).

No es posible prevenir el desarrollo de LLAT en pacientes infectados por el HTLV1, y las estrategias de prevención deben dirigirse a evitar la infección. Se

han identificado factores de riesgo para el desarrollo de enfermedad en los pacientes infectados, que incluye la edad mayor a 40 años, carga proviral alta en células mononucleares de SP e historia familiar de LLAT⁽⁸⁾. En los pacientes asintomáticos con formas indolentes o en las crónicas favorables la estrategia de tratamiento consiste en la observación y el tratamiento antiviral con zidovudina/interferón-alfa, mientras que los pacientes con formas crónicas con factores desfavorables deben recibir QT tempranamente⁽⁹⁾. La respuesta a la QT suele ser pobre pues las células tumorales suelen expresar las proteínas MDR, muestran inestabilidad genómica y clones emergentes frecuentemente. Factores como la hipercalemia y las infecciones oportunistas derivadas de la inmunosupresión también empobrecen el pronóstico^(7,9). Los esquemas de QT propuestos incluyen: CHOP, CHOEP, DA-EPOCH, hyper-CVAD o VCAP-AMP-VECP. Si se dispone de donante la sugerencia es consolidar con TALO en primera remisión completa para prolongar la supervivencia global. Los ensayos clínicos constituyen una alternativa vá-

lida en pacientes recaídos/refractarios^(1,7).

El uso de antivirales y QT parece superior a QT sola en las formas agudas. El tratamiento de la leucemia aguda se inicia con zidovudina/interferón-alfa como inducción previa al esquema de QT, mientras que en el tratamiento del linfoma agudo se inician de forma simultánea los antivirales y la QT^(7,9). Los anticuerpos monoclonales, como anti CCR4 (mogamulizumab), anti CD52 (alemtuzumab) y anti CD30 conjugado (brentuximab vedotin), parecen ser una alternativa futura. Las vacunas terapéuticas antivirales contra distintas proteínas virales están siendo investigadas⁽⁹⁾.

Nuestro paciente corresponde al subtipo de leucemia aguda por el porcentaje elevado de células leucémicas circulantes, sin linfadenopatías ni organomegalias, llamativamente con LDH normal y presentándose por morfología como la variante poco frecuente de tipo Sézary. Se reporta el caso con el objetivo de describir las dificultades diagnósticas y terapéuticas que impone esta entidad, teniendo en cuenta que la infección por el virus es endémica en Argentina.

Conflictos de interés: Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

- Hermine O, Ramos JC, Tobinai K. A Review of New Findings in Adult T-cell Leukemia-Lymphoma: A Focus on Current and Emerging Treatment Strategies. *Adv Ther.* 2018 Feb;35(2):135-152.
- Yamagishi M and Watanabe T. Molecular hallmarks of adult T cell leukemia. *Front Microbiol.* 2012;3:334.
- Takasaki Y et al. Long-term study of indolent adult T-cell leukemia-lymphoma. *Blood.* 2010;115(22):4337-43.
- Biglione C, Berini M. Aportes y consideraciones sobre la infección por los virus linfotrópicos T humanos tipo 1 y 2 en Argentina. *Rev Argent Salud Pública.* 2013;4(125):32-37.
- Giam CZ and Semmes OJ. HTLV-1 Infection and Adult T-Cell Leukemia/ Lymphoma-A Tale of Two Proteins: Tax and HBZ. *Viruses.* 2016;8:161.
- Watanabe T. Adult T-cell leukemia : molecular basis for clonal expansion and transformation of HTLV-1-infected T cells. *Blood.* 2017;129(9):1071-1082.
- Bazarbachi A, Suárez A, Fields P and Hermine O. How I treat adult T-cell leukemia/lymphoma. *Blood.* 2011;118:1736-1745.
- Utsunomiya A, Choi I, Chihara D and Seto M. Recent advances in the treatment of adult T-cell leukemia-lymphomas. *Cancer Sci.* 2015;106(4):344-351.
- Yared JA and Kimball AS. Optimizing management of patients with adult T cell leukemia-lymphoma. *Cancers (Basel).* 2015;7(4):2318-2329.



Atribución – No Comercial – Compartir Igual (by-nc-sa): No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original. Esta licencia no es una licencia libre.

Moxetumomab pasudotox. Inmunotoxina recombinante anti-CD22

Moxetumomab. CD22-targeted immunotoxin

Sackmann F¹, Patronella V²

¹ *Fundaleu, Buenos Aires, Argentina*

² *AstraZeneca*

fsackmann@fundaleu.org.ar
vanesa.patronella@astrazeneca.com

Fecha recepción: 08/4/2020

Fecha aprobación: 20/4/2020



**NUEVAS
DROGAS**

HEMATOLOGÍA

Volumen 24 N° 1: 86-90

Enero - Abril 2020

Palabras claves: leucemia células vellosas, inmunotoxina, CD22, moxetumomab pasudotox-tdfk.

Keywords: hairy cell leukemia, immunotoxin, CD22, moxetumomab pasudotox-tdfk.

Resumen

La leucemia de células vellosas (LCV) es una enfermedad rara e incurable que representa aproximadamente el 2% de las leucemias linfoides. El tratamiento está indicado en pacientes con enfermedad sintomática, ya sea por esplenomegalia, citopenias o infecciones graves. Los análogos de nucleósidos de purinas (ANP), como cladribina y pentostatina, son las drogas de elección para el tratamiento de primera línea en la mayoría de los casos, logrando altas tasas de remisión y largos períodos libres de enfermedad. Sin embargo, las recaídas son frecuentes. Los tratamientos de segunda línea incluyen ANP combinados con rituximab pero, si bien conservan eficacia, las terapias recurrentes se asocian a una toxicidad acumulada importante. Por tal motivo, es de suma importancia investigar y desarrollar nuevas alternativas terapéuticas como moxetumomab pasudotox (CAT-8015).

Dos estudios multicéntricos, uno en fase I y otro en fase III, tuvieron resultados positivos, ya que moxe-

tumomab pasudotox (CAT-8015) logró tasas elevadas de respuestas completas, respuestas duraderas y enfermedad mínima residual negativa demostrando, además, ser seguro para pacientes con LCV recaídos o refractarios.

Abstract

Hairy cell leukemia (HCL) is a rare and incurable disease that represents approximately 2% of lymphoid leukemias. Treatment is indicated for patients with symptomatic disease manifested by splenomegaly, cytopenias or serious infections. Purine nucleoside analogs (PNA), such as cladribine and pentostatin, are the preferred drugs for first line treatment in most cases. With PNA high rates of complete response and long disease-free periods are obtained, however, relapses are frequent. Second line treatment includes PNA combined with rituximab. Even active, recurring PNA are associated with a significant accumulated toxicity. Hence, the need for investigate new therapeutic alternatives as

moxetumomab pasudotox (CAT-8015). Two multicenter studies, one in phase I and one in phase III, had positive results, since moxetumomab pasudotox (CAT-8015) achieved high rates of complete responses, lasting responses and negative minimal residual disease, also proving safe for patients with relapsed or refractory HCL.

Introducción

La LCV es una leucemia linfocítica rara, incurable y de desarrollo lento, que se caracteriza por la acumulación de linfocitos B pequeños con proyecciones citoplasmáticas (“vellosas”) en sangre periférica, médula ósea y pulpa roja del bazo⁽¹⁾. Constituye aproximadamente el 2% de las leucemias, es 4-5 veces más frecuente en hombres y la mediana de edad al diagnóstico es 52 años⁽²⁾. Típicamente genera esplenomegalia y citopenias de distintas magnitudes, con riesgo aumentado de infecciones y sangrados. Diversos trabajos postulan que la LCV se origina a partir de un linfocito B post centrogerminal^(3,4) que sufre rearrreglos de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas, expresión de moléculas de membrana/marcadores pan-B (CD19, CD20 y CD22), junto a antígenos infrecuentes en células B, como CD11c (monocitos y neutrófilos), CD25 (linfocito T activado) y CD103 (linfocito T intraepitelial)⁽⁵⁾. Si bien el 80-90% de los casos se acompañan de una mutación somática, V600E en el BRAF, generando una activación constitutiva en la vía de RAF-MEK-ERK favoreciendo la proliferación y supervivencia celular⁽⁶⁾, hay una minoría que no la tienen⁽⁷⁾.

El tratamiento está indicado en pacientes con enfermedad sintomática, ya sea por esplenomegalia, citopenias o infecciones graves⁽⁸⁾. Los ANP, como cladribina y pentostatina, son las drogas de elección para el tratamiento de primera línea, logrando respuestas duraderas en la mayoría de los casos, con altas tasas de remisión completa y supervivencia global y con supervivencia libre de progresión mayor en aquellos pacientes que obtienen respuestas más profundas^(9,10). Sin embargo, el 30-40% de los pacientes recaen dentro de los cinco a diez años después del primer tratamiento⁽¹¹⁾.

Clásicamente, los tratamientos de segunda línea incluyen ANP solos o combinados con rituximab, logrando respuestas menos profundas y de menor duración⁽¹²⁾. Por otro lado, los tratamientos combinados aumentan las toxicidades⁽¹³⁾.

El interferón y la esplenectomía son tratamientos válidos en pacientes recaídos o refractarios, pero hay una tendencia a utilizarlos cada vez menos y, por ende, suelen reservarse para casos aislados^(14,15). Mas recientemente, el vemurafenib⁽¹⁶⁾, ibrutinib⁽¹⁷⁾ y moxetumomab pasudotox⁽¹⁸⁾ han sido estudiados en pacientes refractarios o recaídos.

Moxetumomab pasudotox es una inmunotoxina recombinante anti-CD22, primera en su clase, y ha sido aprobada por la *Food and Drug Administration* (FDA) para el tratamiento de pacientes adultos con LCV recaída/refractaria que han recibido al menos dos terapias sistémicas previas, incluyendo un tratamiento con ANP⁽¹⁹⁾.

Mecanismo de acción

Moxetumomab es una molécula compuesta por la exotoxina de *Pseudomonas truncada* PE38 que inhibe la síntesis de proteínas y se encuentra fusionada a un dominio variable de inmunoglobulina murina recombinante, diseñada para unirse al antígeno de superficie CD22 en células que expresan CD22⁽²⁰⁾. Al unirse al CD22 en las células B, se internaliza a través de endocitosis mediada por el receptor. Una vez dentro de las células, el complejo CD22-moxetumomab, transita hacia los endosomas donde, en condiciones de pH bajo, moxetumomab se disocia del CD22 y sufre un cambio conformacional que conduce a la proteólisis por furina y a la liberación del fragmento de PE38 citotóxico truncado. Este fragmento de PE38 truncado, a su vez, inhibe la traducción de proteínas e induce la muerte celular a través de la apoptosis (Fig. 1)⁽²¹⁾.

Moxetumomab en LCV

Moxetumomab monoterapia fue evaluado en un estudio clínico de fase III, multicéntrico, de una sola rama, (“1053”, clinicaltrials.gov, identificador: NCT01829711), que incluyó 80 pacientes con LCV recaída o refractaria y se llevó a cabo en 32 centros de 14 países.

El diagnóstico de LCV se realizó por histología y los pacientes debían cumplir con alguno de los siguientes criterios de tratamiento: neutrófilos $<1.0 \times 10^9/L$, plaquetas $<100 \times 10^9/L$, hemoglobina $<10\text{ g/dL}$ o esplenomegalia sintomática. Adicionalmente, los pacientes debían haber recibido al menos dos tratamientos sistémicos previos, incluyendo dos cursos de ANP, un curso de rituximab o un inhibidor de BRAF

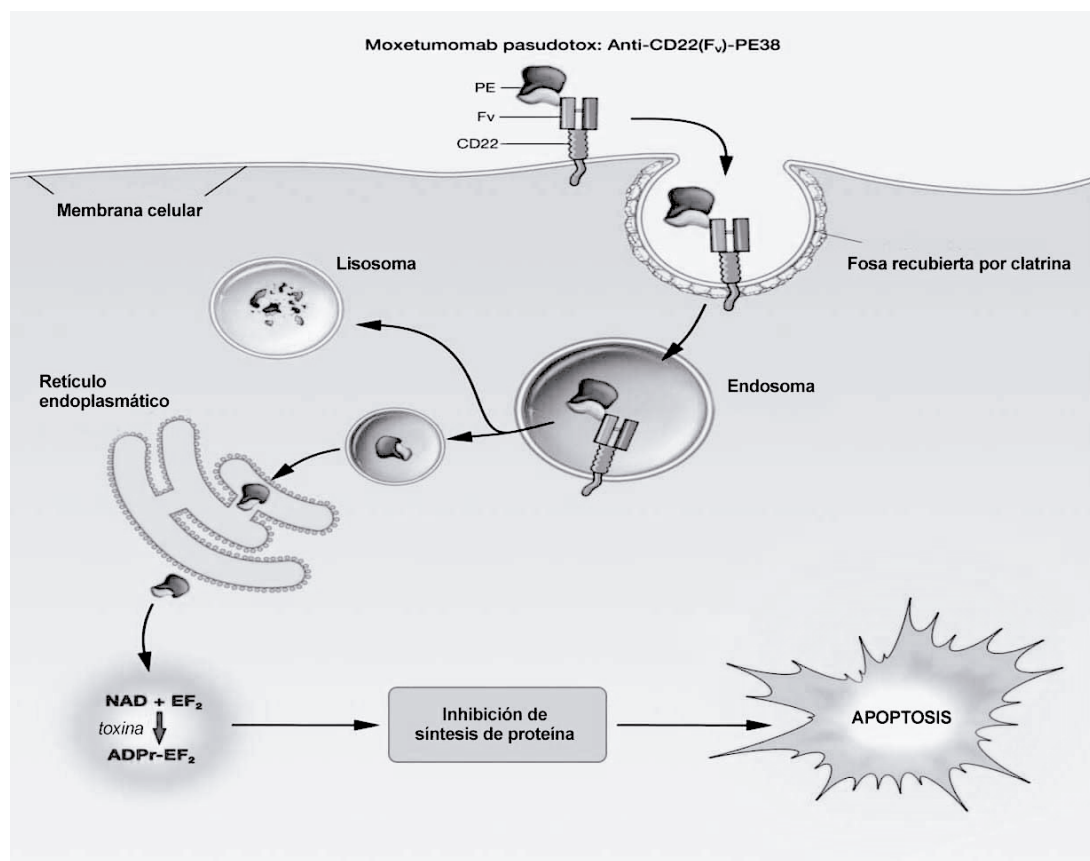


Figura 1. Instituto Nacional del Cáncer de EE. UU. (21)

posterior a un único curso previo de ANP.

El objetivo primario fue evaluar la tasa de respuesta completa duradera, definida como respuesta completa con remisión hematológica por más de 180 días.

Los objetivos secundarios fueron la tasa de respuesta objetiva, duración de la respuesta completa y objetiva, supervivencia libre de progresión, seguridad/tolerabilidad, inmunogenicidad y farmacocinética.

Entre los pacientes incluidos, la mediana de cantidad de tratamientos previos fue de 3 (rango: 2-11). De acuerdo a los criterios de inclusión, todos los pacientes recibieron terapia previa con ANP. El 29% recibió ANP combinado con rituximab. Otros regímenes de tratamiento recibidos previamente fueron rituximab monoterapia (51%), interferón alfa (25%) y un inhibidor de BRAF (18%).

La tasa de respuesta completa duradera fue del 30% (IC95% 20-41), la tasa de respuesta global de 75% (IC95% 64-84), la tasa de respuesta completa de 41% (IC95% 30-53) y la tasa de respuesta parcial de 34% (IC95% 24-45).

La mediana del tiempo hasta la remisión hemató-

gica fue de 1,1 meses (rango: 0.2 a 13). El 80 % de los pacientes lograron una remisión hematológica al mes de iniciar el tratamiento (IC95% 1.0-1.2).

Con una mediana de seguimiento de 16,7 meses (2-49), la mediana de duración de la respuesta completa no se alcanzó⁽¹⁸⁾.

Dosis y administración

La dosis de moxetumomab pasudotox es 0,04 mg / kg y se aplica por vía endovenosa (EV) en 30 minutos, los días 1, 3 y 5, en ciclos de 28 días, por un máximo de seis ciclos o hasta la documentación de respuesta completa con enfermedad mínima residual negativa, progresión de la enfermedad o toxicidad inaceptable.

Los pacientes deben recibir profilaxis para la insuficiencia renal (hidratación EV pre y post infusión), tromboprofilaxis con dosis bajas de aspirina y profilaxis para reacciones de hipersensibilidad (paracetamol, antihistamínico y ranitidina) entre 30 a 90 minutos previos a la infusión.

Moxetumomab no se recomienda en pacientes con

insuficiencia renal grave (depuración de creatinina ≤ 29 ml / min)⁽²⁰⁾.

Toxicidad. Eventos adversos

Las reacciones adversas > 3 más frecuentes (notificadas en al menos $\geq 5\%$ de los pacientes) fueron hipertensión, neutropenia febril y síndrome urémico hemolítico (SUH).

Las reacciones adversas más comunes ($\geq 20\%$), de cualquier grado, fueron reacciones relacionadas con la infusión (50%), edema periférico (39%), náuseas (35%), fatiga (34%), cefalea (33%), pirexia (31%), estreñimiento (23%), anemia (21%) y diarrea (21%).

Las anormalidades de laboratorio más comunes ($\geq 20\%$), de cualquier grado, fueron aumento de creatinina, aumento de GOT/GPT, hipoalbuminemia, hipocalcemia, hipofosfatemia, disminución de hemoglobina, disminución del recuento de neutrófilos, hiponatremia, aumento de la bilirrubina en sangre, hipokalemia, aumento de GGT, hipomagnesemia, disminución del recuento de plaquetas, hiperuricemia y aumento de la fosfatasa alcalina^(18,20).

Se produjeron reacciones adversas que provocaron la interrupción permanente de moxetumomab en el 15% (12/80) de los pacientes. La reacción adversa más común que condujo a la interrupción fue SUH (5%). La reacción adversa más común que resultó en retrasos, omisiones o interrupciones de la dosis fue la pirexia (3,8%)⁽²⁰⁾.

Advertencia

Síndrome de extravasación capilar (“*capillary leak*”): es necesario controlar el peso y la presión sanguínea; verificar los resultados de laboratorio, incluida la albúmina. Si se sospecha síndrome de extravasación capilar, retrasar la dosificación o sus-

pende moxetumomab según la gravedad.

SUH: es necesario monitorear la hemoglobina, el recuento de plaquetas, la creatinina sérica y asegurar una hidratación adecuada. Se debe suspender moxetumomab en pacientes con SUH^(18,20).

Conclusiones

La LCV se considera una enfermedad crónica. Aunque el primer tratamiento puede conducir a una remisión prolongada, el 30% al 40% de los pacientes recaerán entre cinco y diez años después. Con los tratamientos posteriores, la duración de la respuesta disminuye y la toxicidad se acumula.

Hay muy pocas opciones terapéuticas disponibles para las personas con LCV recaída/refractaria, y no existe un estándar de tratamiento para pacientes con LCV en la tercera línea o posterior que hayan sido tratados previamente con ANP.

Moxetumomab es el primer tratamiento aprobado por FDA para pacientes con LCV recaída o refractaria luego de más de 20 años sin innovación en esta enfermedad, demostrando ser eficaz y con un perfil de toxicidad aceptable. Para pacientes que progresan antes de los 24 meses y que tienen indicación de tratamiento, las opciones son repetir un ANP combinado seguido de rituximab o moxetumomab pasudotox.

Los pacientes que reciben moxetumomab requieren una hidratación previa, premedicación para reducir las reacciones infusionales y monitoreo de la función renal y electrolitos.

A pesar de que se requiere mayor seguimiento para determinar la duración de las respuestas y toxicidades a largo plazo, moxetumomab tiene el potencial de convertirse en una opción de tratamiento para pacientes con LCV recaída o refractaria.

Conflictos de interés: El Dr. Sackman declara haber recibido honorarios de parte de Novartis, Janssen, Varifarma y Raffo por concepto de actividades educativas en las que ha participado. La Dra. Vanesa Patronella declara ser empleada del Laboratorio AstraZeneca.

Bibliografía

1. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA y col. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127(20):2375-90.
2. Troussard X, Cornet E. Hairy cell leukemia 2018: Update on diagnosis, risk-stratification, and treatment. *Am J Hematol*. 2017; 92:1382-1390.
3. Chung SS, Kim E, Park JH y col. Hematopoietic stem cell origin of BRAFV600E mutations in hairy cell leukemia. *Sci Transl Med*. 2014; 6(238):238ra71.
4. Tiacci E, Liso A, Piris M y col. Evolving concepts in

- the pathogenesis of hairy cell leukemia. *Nat Rev Cancer*. 2006; 6:437.
5. Grever MR, Abdel Wahab O, Andritsos LA y col. Consensus guidelines for the diagnosis and management of patients with classic hairy cell leukemia. *Blood*. 2017;129(5):553-560.
 6. Tiacci E, Trifonov V, Schiavoni G y col. BRAF mutations in hairy-cell leukemia. *N Engl J Med*. 2011;364(24):2305-2315.
 7. Tschernitz S, Flossbach L, Bonengel M y col. Alternative BRAF mutations in BRAF V600E-negative hairy cell leukaemias. *Br J Haematol*. 2014;165(4):529-33.
 8. Thompson P, Ravandi F. How I manage patients with hairy cell leukaemia. *Br J Haematol*. 2017;177(4):543-556.
 9. Else M, Dearden CE, Matutes E y col. Long term follow up of 233 patients with hairy cell leukemia, treated initially with pentostatin or cladribine, at a median of 16 years from diagnosis. *Br J Haematol*. 2009; 145:733.
 10. Else M, Ruchlemer R, Osuji N y col. Long remissions in hairy cell leukemia with purine analogs: a report of 219 patients with a median follow up of 12.5 years. *Cancer*. 2005; 104:2442.
 11. Lopez-Rubio M, Garcia-Marco JA. Current and emerging treatment options for hairy cell leukemia. *Onco Targets Ther*. 2015; 8:2147-2156.
 12. Chihara D, Kantarjian H, O'Brien S y col. Long-term durable remission by cladribine followed by rituximab in patients with hairy cell leukaemia: update of a phase II trial. *Br J Haematol*. 2016;174(5):760-766.
 13. Zinzani PL, Pellegrini C, Stefoni V y col. Hairy cell leukemia: evaluation of the long-term outcome in 121 patients. *Cancer*. 2010;116(20):4788-4792.
 14. Berman E, Heller G, Kempin y col. Incidence of response and long-term follow-up in patients with hairy cell leukemia treated with recombinant interferon alfa-2a. *Blood*. 1990; 75: 839-845.
 15. Habermann TM y Rai K. Historical treatments of hairy cell leukemia, splenectomy and interferon: past and current uses. *Leukaemia & Lymphoma*. 2011; 52: 18-20.
 16. Tiacci E, Park JH, De Carolis L y col. Targeting mutant BRAF in relapsed or refractory hairy-cell leukemia. *N Engl J Med*. 2015;373 (18):1733-1747.
 17. Bohn JP, Wanner D, Steurer M. Ibrutinib for relapsed refractory hairy cell leukemia variant. *Leuk Lymphoma*. 2017;58(5):1224-1226.
 18. Kreitman RJ, Dearden C, Zinzani PL y col. Moxetumomab pasudotox in relapsed/refractory hairy cell leukemia. *Leukemia*. 2018;32(8):1768-1777.
 19. <https://www.fda.gov/drugs/new-drugs-fda-cders-new-molecular-entities-and-new-therapeutic-biological-products/novel-drug-approvals-2018>
 20. LUMOXITIM (moxetumomab pasudotox-tdfk) [prescribing information]. Wilmington, DE: Astra-Zeneca Pharmaceuticals LP; 2018.
 21. Schneider AK, Vainshtein I, Roskos LK y col. An immunoinhibition approach to overcome the impact of pre-existing antibodies on cut point establishment for immunogenicity assessment of moxetumomab pasudotox. *Journal of Immunological Methods*. 2016; 435:68-76.



Atribución – No Comercial – Compartir Igual (by-nc-sa): No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original. Esta licencia no es una licencia libre.

Determinación del factor von Willebrand para la confirmación de la enfermedad de von Willebrand en Nicaragua

Determination of von Willebrand factor for the confirmation of von Willebrand's disease in Nicaragua

Pernudy A¹, Marcia A², Gutiérrez D², Bonilla O², Berríos R³.

¹ Mibeg-Institut Medizin; Colonia, Alemania.

² Instituto Politécnico de la Salud, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua; Managua, Nicaragua.

³ Banco Nacional de Sangre; Managua, Nicaragua.

pernudi@gmail.com

Fecha recepción: 30/1/2020

Fecha aprobación: 20/4/2020



COMUNICACIÓN
BREVE

HEMATOLOGÍA
Volumen 24 N° 1: 91-94
Enero - Abril 2020

Palabras claves: enfermedad de von Willebrand, factor von Willebrand antigénico, hemostasia.

Keywords: von Willebrand disease, von Willebrand antigenic factor, hemostasis.

Resumen

La enfermedad de von Willebrand constituye la diátesis hemorrágica más frecuente a nivel mundial que afecta a hombres y mujeres. Actualmente existen 3 tipos de enfermedad de von Willebrand: tipo 1, 2A, 2B, 2M, 2N y 3, siendo el tipo 1 el más frecuente. En Nicaragua el diagnóstico de esta coagulopatía se basa en pruebas básicas de hemostasia; lo que supone diagnósticos inadecuados. El presente estudio determinó el factor von Willebrand antigénico en pacientes con sospecha de enfermedad de von Willebrand registrados en el Banco Nacional de Sangre; Managua, Nicaragua en el año 2017.

Se realizó un estudio descriptivo de tipo transversal con 39 pacientes que presentaron sospecha de enfermedad de von Willebrand. Se utilizó un kit comercial para determinar la concentración plasmática del factor von Willebrand. Se obtuvo que el 69% presentó concentraciones normales del factor von Willebrand. Sólo en el 31% de los pacientes la

enfermedad de von Willebrand fue confirmada por la disminución de niveles del factor de von Willebrand.

Abstract

Von Willebrand's disease is the most frequent hemorrhagic diathesis worldwide affecting men and women. Currently, there are 3 types of von Willebrand's disease: type 1, 2A, 2B, 2M, 2N, and 3, with type 1 being the most frequent. In Nicaragua the diagnosis of this coagulopathy is based on basic hemostasis tests; supposedly leading to inadequate diagnosis. The present study determined the antigenic von Willebrand factor (vWF) in patients with suspected of von Willebrand disease registered in the National Blood Bank; Managua, Nicaragua in 2017.

A descriptive cross-sectional study was conducted with 39 patients with suspected von Willebrand's disease. A commercial kit was used to determine the

plasma concentration of von Willebrand factor. It was obtained that of 69% of the analyzed individuals presented normal concentrations of von Willebrand factor. Only in the remaining 31% of the patients the von Willebrand disease was confirmed by decreased von Willebrand factor levels.

Introducción

La enfermedad de von Willebrand se considera el trastorno hemorrágico hereditario más frecuente de las proteínas de la coagulación en los seres humanos⁽¹⁾. La coagulopatía está asociada a mutaciones en el cromosoma 12, en la región p13.2 que codifica para el factor von Willebrand⁽²⁾. Según las directrices de la Federación Mundial de Hemofilia, existen 3 tipos de enfermedad de von Willebrand: 1, 2A, 2B, 2M, 2N, y 3⁽²⁾. Se ha descrito un tipo de enfermedad von Willebrand adquirido desencadenado por enfermedades crónicas, sin embargo éste es muy poco frecuente⁽³⁾.

El tipo 1 y 3 de la enfermedad se describen como defectos cuantitativos del factor a nivel plasmático; siendo el tipo 3 el más grave de ambos⁽⁴⁾. El tipo 2 se divide en 4 subtipos y se puntualiza como un defecto cualitativo del factor; contemplando que el subtipo 2A corresponde a una disminución o ausencia de multímeros de peso molecular alto e intermedio con baja afinidad plaquetaria; el subtipo 2B se observa como una disminución o ausencia de multímeros de alto peso molecular con alta afinidad plaquetaria⁽⁴⁾. El subtipo 2M presenta baja afinidad plaquetaria sin pérdida de multímeros de alto peso molecular; en cambio el subtipo 2N muestra baja afinidad por unión del factor VIII, lo que genera un cuadro sintomatológico similar al de la hemofilia A; por lo que el diagnóstico de la enfermedad de von Willebrand suele ser complejo⁽⁵⁾.

Por ello, el objetivo de esta investigación se basó en la determinación del factor von Willebrand antigénico en pacientes con sospecha de enfermedad de von Willebrand registrados en el Banco Nacional de Sangre; Managua, Nicaragua durante el año 2017. A nivel mundial se estima una prevalencia de enfermedad de von Willebrand de 0,6 a 1,3%, considerando que las formas clínicamente significativas de la enfermedad afectan a 100 personas por cada millón de individuos⁽⁶⁾. Sin embargo, se cree que existe un porcentaje de individuos subdiagnosticados con esta coagulopatía, ya que las manifestaciones clíni-

cas derivadas del trastorno, especialmente epistaxis, menorragias y gingivorragias pueden ser leves, interpretándose generalmente como un cuadro sintomatológico dentro de lo común.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio tipo descriptivo de corte transversal, mediante la determinación de la concentración plasmática del factor von Willebrand en 39 individuos con sospecha de enfermedad de von Willebrand. El análisis se realizó por la presencia de un cuadro sintomatológico con manifestación de epistaxis, gingivorragias, hematomas y menorragia en el caso de pacientes femeninas. Los individuos seleccionados procedieron de diversas zonas del país, entre ellos 20 hombres y 19 mujeres. Se obtuvo consentimiento informado de todos los participantes para participar en el estudio y posteriormente obtener una muestra sanguínea con citrato de sodio 3.8% para análisis de laboratorio.

Las muestras fueron ingresadas y procesadas en el laboratorio de Biología Molecular del Instituto Politécnico de la Salud UNAN-Managua entre marzo y abril 2017. Para determinar la concentración plasmática del factor von Willebrand se utilizó plasma citratado. Las muestras fueron procesadas mediante indicaciones establecidas por el kit ELISA factor von Willebrand (FvW:Ag Abcam-Cambridge, 2016); utilizando parámetros de dilución de reactivos y muestras establecidos por el fabricante. La lectura de cada muestra se realizó a través de un lector de microplacas (HumanReader HS) a una longitud de onda de 450 nm.

Resultados

El estudio realizado en 39 pacientes con sospecha de enfermedad de von Willebrand dio como resultado que, del total de la población muestreada, el 31% (12 individuos) presentó concentración disminuida del factor von Willebrand con respecto a rangos normales establecidos por la técnica empleada, mientras que el 69% restante (27 individuos) tuvo una concentración normal del factor en estudio (Gráfico 1). Por otra parte, la revisión del historial clínico de los individuos que presentaron niveles disminuidos del factor von Willebrand destacó las epistaxis y hematomas como principales manifestaciones clínicas (con un 33%) seguido de gingivorragias, hemartrosis y menorragias con un 25%. En menor pro-

porción se observó la manifestación de equimosis y petequias, presentándose en un 8% de individuos afectados (Gráfico 2)

Discusión

La enfermedad de von Willebrand es considerada el trastorno hereditario más común de la hemostasia, de expresión muy variable de acuerdo al tipo y severidad de la enfermedad⁽⁷⁾.

De 39 pacientes con sospecha de enfermedad de von Willebrand de acuerdo a su cuadro sintomatológico que incluía la manifestación de epistaxis, gingivorragias, hematomas y menorragias (en el caso de las

mujeres), el 31% -correspondiente a 12 individuos del estudio- presentó concentración disminuida del factor von Willebrand, valores relativos hasta de un 30% de disminución con respecto al rango de referencia presentado por la técnica (0.52-2.00 UI/mL), mencionando que los valores obtenidos en estos individuos confirman el padecimiento de la coagulopatía, al revelar concentraciones disminuidas del factor von Willebrand y presencia de cuadros de sangrado.

Igualmente, al mencionar que la enfermedad de von Willebrand es una enfermedad de expresión variable, se observó en el estudio que la manifestación de

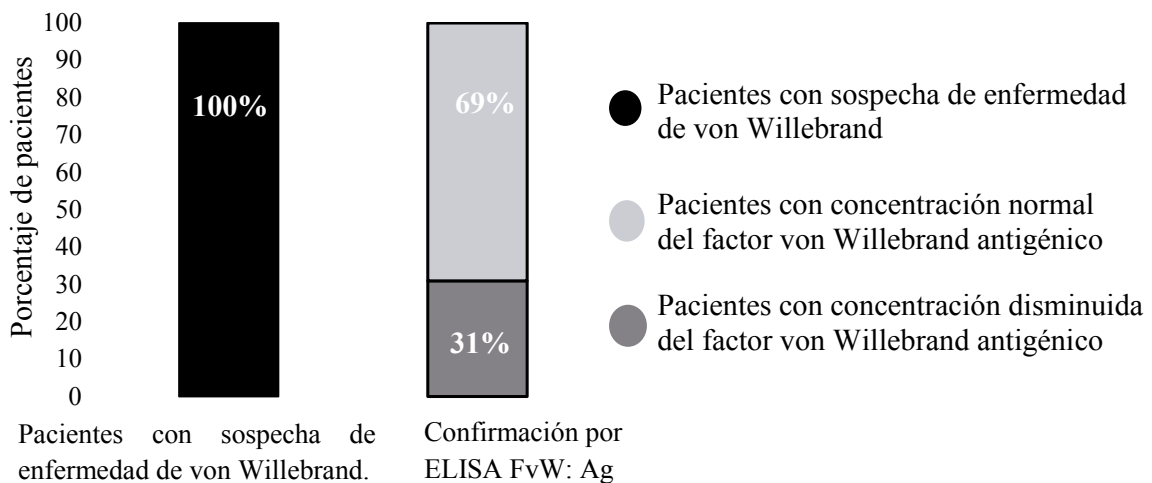


Gráfico 1. Confirmación de la enfermedad de Von Willebrand mediante la determinación del factor von Willebrand antigénico.

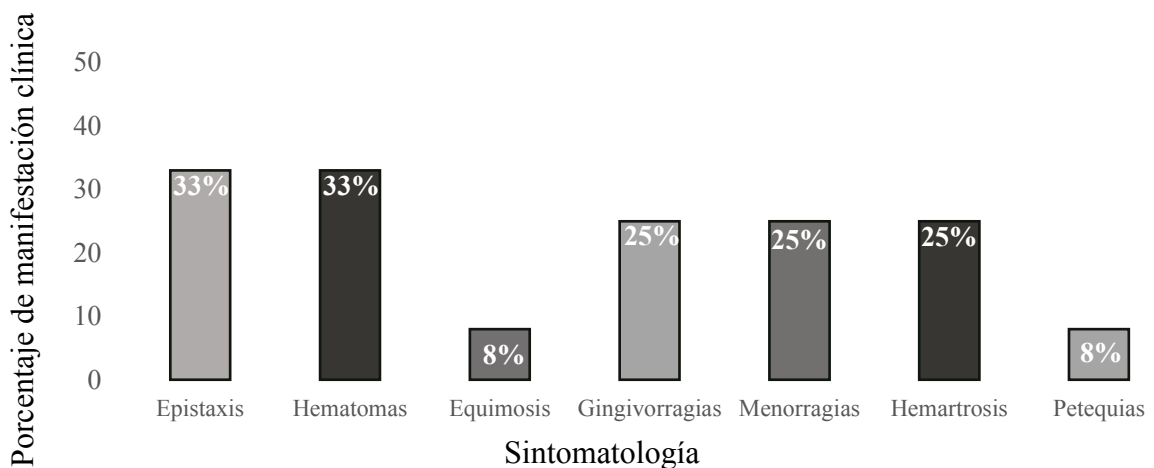


Gráfico 2. Manifestación de sintomatología de acuerdo a la concentración de factor von Willebrand Antigénico.

epistaxis, hematomas y menorragias constituyeron los síntomas de mayor frecuencia, síntomas que fueron de severidad baja y principalmente presentados por los individuos con concentración más bajas de factor von Willebrand antigénico. Por otra parte, las gingivorragias y hemartrosis fueron presentadas en menor porcentaje de pacientes, al igual que las equimosis y petequias, siendo éstos dos últimos manifestados en intervalos de tiempo muy prolongados, y que según la literatura son infrecuentes en la enfermedad von Willebrand⁽⁶⁾. Un porcentaje bajo de pacientes manifestó otros síntomas, como hemorragias por extracciones dentales, sangrados oculares y sangrados umbilicales; igualmente presentados con poca frecuencia.

El grado de severidad y la frecuencia de la sintomatología en estos pacientes igualmente coincidió con el diagnóstico de enfermedad von Willebrand, expresando los pacientes afectados podrían estar asociados a un cuadro de enfermedad von Willebrand tipo 1, el cual se caracteriza por episodios de sangrado leve y disminución parcial del factor, que, según estadísticas mundiales el tipo 1 de la enfermedad, es el más común⁽⁸⁾. No obstante, ello se corroboraría con el empleo de otras pruebas como actividad del cofactor de ristocetina y la prueba de agregación plaquetaria inducida por ristocetina⁽⁹⁾, pruebas que

no fueron efectuadas en este estudio.

El 69% restante de individuos estudiados, pese a que también manifestó síntomas característicos de la patología, presentó una concentración normal del factor von Willebrand, lo que indicó la posibilidad de que esta población presente otras alteraciones de la coagulación o bien otros defectos del factor von Willebrand, tipos que pueden ser confirmados con las pruebas antes mencionadas.

La determinación del factor von Willebrand antigénico contribuyó por primera vez en Nicaragua al diagnóstico de enfermedad de von Willebrand en individuos con sospecha de la coagulopatía, lo que permitió brindar un seguimiento adecuado de los individuos, señalando que centros de atención de coagulopatías como el Banco Nacional de Sangre adoptaron e implementaron la técnica de factor von Willebrand antigénico como una prueba del panel especial para el diagnóstico de trastornos hemostáticos.

Agradecimientos

Expresamos nuestros más sinceros agradecimientos a Lic. Marisol Soza, Dra. Yesly García, Lic. Javier Rivas Ojeda por su apoyo en la obtención de datos clínicos y a Lic. Ana Sofía Flores Sandino por su asesoría en la ejecución del ensayo.

Conflictos de interés: Los autores declaran no tener conflictos de intereses a revelar.

Bibliografía

- Hernández EZ, Zavala CH, Quintana SG, Reyes EM. Enfermedad de von Willebrand: Biología molecular y diagnóstico. *Cirugía y Cirujanos*. 2015; 83 (3):255-264.
- Lillicrap D. Ciencia Básica, diagnóstico y tratamiento médico de la Enfermedad de von Willebrand. *Federación Mundial de Hemofilia*. 2008; 35 (5-7): 2-13.
- Batlle J, Pérez-Rodríguez A, Costa-Pinto J y col. Avances en el síndrome de von Willebrand o enfermedad de von Willebrand adquirida: aspectos más novedosos. *Hematológica*. 2016; 96: 35-42.
- Woods A y col. Factor von Willebrand y Enfermedad de von Willebrand: nuevos enfoques diagnósticos. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 2016; 50 (2): 273-289.
- Meschengieser S. Enfoque diagnóstico de la enfermedad de von Willebrand y hemofilia adquirida en nuestro país. *Sociedad Argentina de Hematología*. 2015; 19: 25-31.
- Leebeek, FW, Eikenboom JC. Von Willebrand's Disease. *New England Journal of Medicine*. 2016; 375:2067-2080.
- Verdugo P, Morales M, Quiroga T. Correlación clínica y de laboratorio en pacientes pediátricos portadores de Enfermedad de von Willebrand. *Revista Pediátrica Electrónica*. Chile. 2005; 2: 5-10.
- Manucci, PM. Treatment of von Willebrand Disease. *New England Journal of Medicine*. 2004; 351:683-694.
- Stufano F, Baronciani L, Peyvandi F. Diagnóstico de la Enfermedad von Willebrand: Caracterización fenotípica. *Federación Mundial de Hemofilia*. 2017; 55: 1-24.



Atribución – No Comercial – Compartir Igual (by-nc-sa): No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original. Esta licencia no es una licencia libre.

ADAMTS-13: diagnóstico de laboratorio

ADAMTS-13: laboratory diagnosis

Lencinas G; Perés S; Aranda F; de Larrañaga G

Hospital de Infecciosas "Francisco Javier Muñiz"
Laboratorio de Hemostasia y Trombosis

giselalencinas@yahoo.com.ar

Fecha recepción: 10/3/2020

Fecha aprobación: 31/3/2020



LABORATORIO

HEMATOLOGÍA

Volumen 24 N° 1: 95-100

Enero - Abril 2020

Palabras claves: ADAMTS-13,
Púrpura Trombocitopénica Trombótica,
Diagnóstico.

Keywords: ADAMTS-13,
Thrombotic Thrombocytopenic Purpura,
Diagnostic.

Introducción

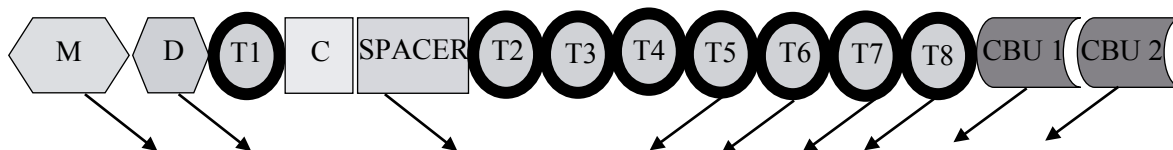
ADAMTS-13 (A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin type 1 repeats, member 13) es una desintegrina y metaloproteasa, zinc y calcio dependiente, codificada en el cromosoma humano 9q34 (Figura 1). Es sintetizada principalmente en las células estrelladas del hígado (90%) y, en menor medida, en endotelio, riñón (células tubulares y podocitos), placenta y plaquetas. Tiene una vida media de 2 a 3 días, se libera como enzima activa a la circulación y, hasta el momento, no se han descrito inhibidores fisiológicos⁽¹⁾.

Las células endoteliales sintetizan el factor de von Willebrand (VWF) y lo liberan a la circulación principalmente como multímeros ultra grandes (ULVWF). El rol primario de ADAMTS-13 es clivar estos ULVWF, originando las diferentes formas moleculares del VWF que van desde dímeros simples a multímeros más complejos de hasta 20 unidades. El sitio específico de clivaje de ADAMTS-13 se encuentra ubicado en la posición Tyr1605-Met1606

del dominio A2 del monómero de VWF. Este sitio se despliega, volviéndose accesible a ADAMTS-13 cuando la molécula es sometida a altas fuerzas de cizallamiento (*shear stress*) (Figura 2). Esta degradación proteolítica de los ULVWF es un evento fisiológico necesario, ya que éstos tienen un potencial trombogénico elevado⁽¹⁾.

Cuando la actividad de ADAMTS-13 está disminuida, como ocurre en la púrpura trombocitopénica trombótica (PTT), los ULVWF persisten en circulación, se unen a las plaquetas a través del complejo glucoproteico GPIb-V-IX, promoviendo su agregación y la consecuente formación de microtrombos ricos en plaquetas y VWF que, al desprenderse, provocan patología micro/macrovascular oclusiva con isquemia tisular⁽⁴⁾.

Como las características clínicas de PTT son similares a otras entidades clínicas que se agrupan dentro de las microangiopatías trombóticas (MAT), la determinación de la actividad de ADAMTS-13 resulta una herramienta muy útil para ayudar al diagnóstico



Dominios que contribuyen con la unión al VWF

Figura 1. Representación esquemática de la molécula de ADAMTS-13

La molécula está formado por: 1 dominio de metaloproteasa (M), 1 dominio símil-desintegrina (D), 8 repeticiones de motivos de trombospondina (T1 - T8), 1 dominio rico en cisteína (C), 1 dominio espaciador (SPACER), 2 dominios CBU (CBU1 y CBU2).

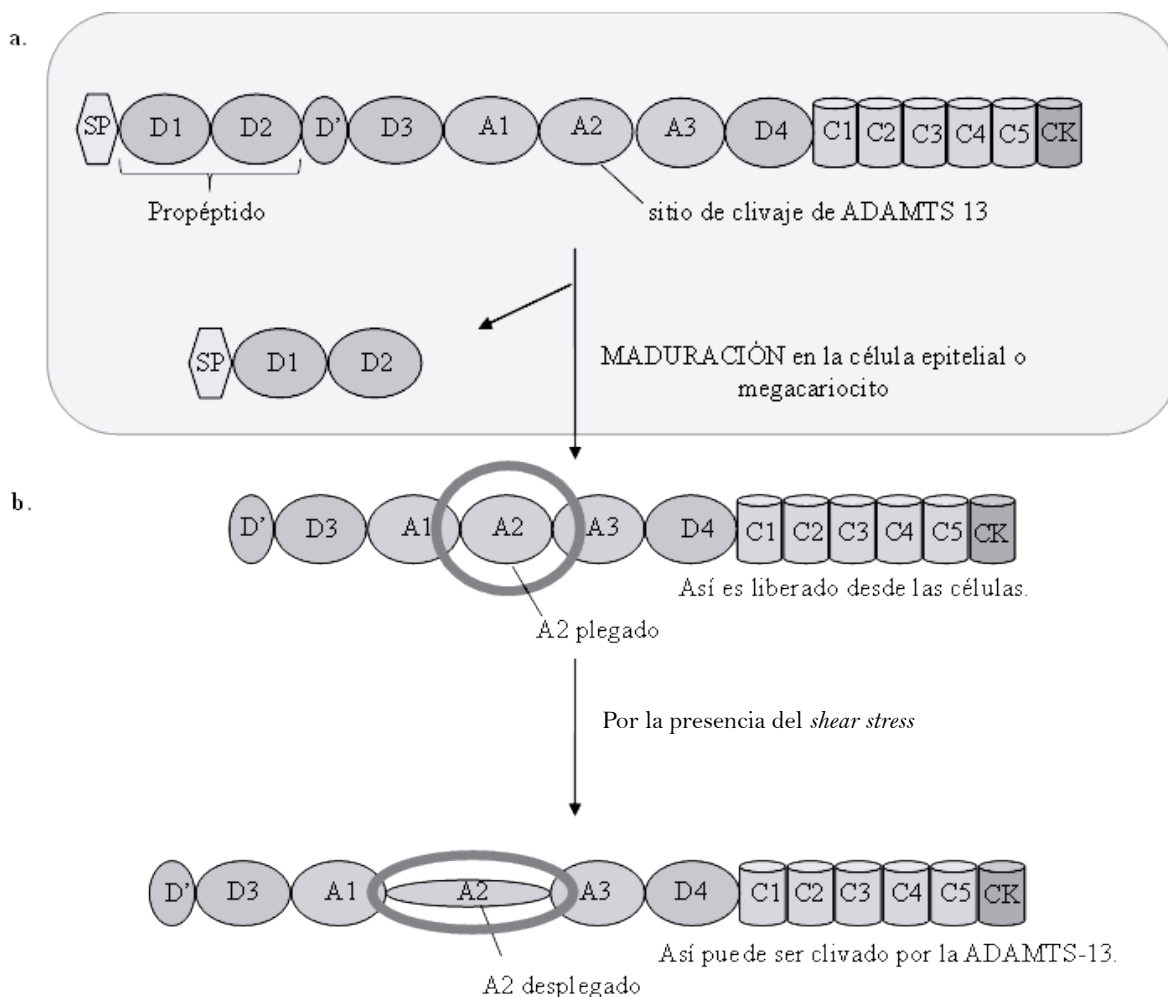


Figura 2. Representación esquemática de la molécula de VWF

a. La molécula de VWF presenta 1 región péptido señal (SP), 5 dominios D (D1, D2, D3, D4, D'), 3 dominios A (A1, A2, A3), 6 dominios C (C1-C6) y 1 dominio CK.

Durante la maduración se elimina el péptido señal y el propéptido.

b. Esquema que representa a la molécula de VWF liberada desde la célula endotelial o plaqueta. En presencia de *shear stress*, el dominio A2 del VWF se despliega y expone los sitios de unión a la ADAMTS-13, lo que provoca finalmente el clivaje del enlace Tyr1605-Met1606 del VWF.

diferencial, al seguimiento de la enfermedad y a la evaluación o modificación del tratamiento.

Fundamento del ensayo

Los laboratorios especializados pueden determinar tres características relacionadas con ADAMTS13: la actividad, el antígeno y la presencia de anticuerpos. Debido a su valor informativo acerca de la funcionalidad de la molécula, la actividad es el principal parámetro a evaluar.

Determinación de la actividad de ADAMTS-13

Los primeros métodos descritos para determinar la actividad de ADAMTS-13, conocidos como de **primera generación**, consisten en técnicas funcionales basadas en la degradación de la molécula completa de VWF, plasmático o recombinante, por la enzima presente en la muestra de plasma a analizar. Estos ensayos requieren someter al VWF a condiciones que permitan su desplegamiento, facilitando el acceso de la metaloproteasa a su lugar de acción. En presencia de ADAMTS-13, las moléculas de VWF son degradadas y, luego, los productos de digestión son analizados por diferentes métodos: 1- separados por tamaño mediante electroforesis en geles de SDS-agarosa o SDS-poliacrilamida, o 2- por su actividad residual medida a través de su unión al colágeno o mediante el ensayo de agregación plaquetaria inducida por ristocetina. Algunas desventajas que presentan estas metodologías es que requieren mucho tiempo (2-3 días), son dificultosos y presentan mucha variabilidad intra e interensayo.

Actualmente, se utilizan los métodos llamados de **segunda generación**, que utilizan fragmentos específicos de la molécula de VWF (péptidos sintéticos) aumentado la sensibilidad, especificidad y reproducibilidad de los ensayos al eliminar la variación debido a la composición multimérica del VWF. Al mismo tiempo, no requieren un tratamiento previo de la muestra para facilitar la acción enzimática de ADAMTS-13. De ellos los más difundidos son los ensayos inmunoanalíticos comerciales (ELISA) con detección por sustratos cromogénicos, como por ejemplo **TECHNOZYM® ADAMTS-13 Activity** (Technoclone GmbH, Vienna, Austria). Este método utiliza como sustrato un péptido recombinante de fusión GST-VWF73, que contiene el sitio de corte específico de la ADAMTS-13, inmovilizado en una placa sobre la que se añade la muestra de plasma en la que se quiere determinar la actividad

de la enzima. En presencia de ADAMTS-13, este sustrato es clivado, exponiendo una secuencia de aminoácidos específica que se detecta posteriormente con el agregado de un anticuerpo conjugado con enzima peroxidasa y posterior revelado con un sustrato cromogénico (TMB). La intensidad de color resulta directamente proporcional a la actividad de ADAMTS-13.

Otro de los métodos actualmente disponibles son los denominados **FRETS** (*Fluorescence Resonance Energy Transfer Assay*). En estos ensayos, el fragmento VWF73 es modificado químicamente de manera que contiene un fluoróforo y una molécula que actúa inhibiéndolo. En presencia de ADAMTS-13, ésta clivará el péptido, liberando el inhibidor y permitiendo la emisión de fluorescencia al exponerlo a una cierta longitud de onda. La intensidad de la fluorescencia será directamente proporcional a la actividad de la enzima.

Recientemente ha sido descrito un ensayo llamado **HemosIL AcuStar ADAMTS13 activity assay** (Instrumentation Laboratory, Bedford, Massachusetts, United States), que utiliza el péptido VWF73 unido a partículas magnéticas y tecnología de quimioluminiscencia como método de detección.

Determinación de ADAMTS-13 antigénica

También existe la posibilidad de medir la concentración antigénica de ADAMTS-13, mediante la técnica de ELISA. Esto resulta útil para comprobar si las alteraciones congénitas afectan la expresión de la proteína o su actividad funcional.

Estudios complementarios

Para complementar los estudios se pueden determinar:

1. **Anticuerpos anti-ADAMTS-13 totales:** pueden medirse por ELISA, *western blotting* o inmunoprecipitación. Estos anticuerpos son principalmente de isotipo IgG, pero también se han descritos de isotipo IgM e IgA.
2. **Anticuerpos con acción inhibitoria de la actividad de ADAMTS-13:** estos cobran importancia en el diagnóstico de la PTT autoinmune o adquirida. Para detectarlos se realiza una mezcla de plasma de paciente con plasma control (1:1) y posteriormente se determina la actividad de ADAMTS-13 por alguno de los métodos previamente descritos. La capacidad inhibitoria del anticuerpo se expresa en unidades Bethesda (1

unidad Bethesda es la concentración de anticuerpo capaz de inhibir la actividad ADAMTS-13 en un 50%).

3. **Estudios genéticos de ADAMTS-13:** útiles para la confirmación del diagnóstico de PTT hereditaria. Existen más de 100 mutaciones descritas en el gen de ADAMTS-13, algunas en estado homocigota y otras en estado heterocigota, que están involucradas en la fisiopatología de la PTT⁽¹⁾.

Condiciones preanalíticas para medir la actividad de ADAMTS-13

- **Toma de muestra:** es aconsejable extraer una muestra antes del inicio del tratamiento de plasmaféresis, aún sin tener un diagnóstico certero, para conocer el valor basal de la actividad de ADAMTS-13. En el seguimiento del paciente, la toma de muestra deberá realizarse lo más alejada posible de la plasmaféresis ya que ésta puede provocar que se sobrestimen los niveles de actividad de la enzima.

- **Muestra:** se utiliza muestra de plasma pobre en plaquetas obtenido con citrato de sodio 3.2% (1:9). No puede utilizarse EDTA como anticoagulante, ya que es un inhibidor irreversible de la actividad de ADAMTS-13. Las muestras pueden ser conservadas 2-4 horas a temperatura ambiente o bien guardadas congeladas, preferentemente a una temperatura ≤ -70 °C. Deben descongelarse a 37 °C en el momento de realizar las determinaciones.

- **Interferencias:** hemólisis o lipemia severa o una marcada hiperbilirrubinemia interfieren en las determinaciones pudiendo arrojar falsos valores disminuidos de actividad de ADAMTS-13, particularmente en los ensayos FRETTS. La hemoglobina libre en el plasma de pacientes con hemólisis intravascular puede también inhibir a ADAMTS-13⁽²⁾. La presencia de proteasas, como por ejemplo catepsina G o elastasa, puede hacer que se sobrevaloren los niveles de ADAMTS-13 por proteólisis inespecífica del péptido VWF73.

Condiciones analíticas

Con el objetivo de armonizar los resultados de laboratorio, la Organización Mundial de la Salud en el año 2014 desarrolló el primer estándar internacional (Código 12/252) que es utilizado como patrón primario para validar los calibradores provistos por los *kits*. Éste es un punto muy importante a evaluar en el momento de la elección del método.

Como control de calidad interno se utiliza el set de controles provistos por el fabricante (alto y bajo). Se dispone además de controles de calidad externos como el *External Quality Assessment Programme* (EQAP) de la fundación ECAP (Países Bajos).

En los casos del ELISA cromogénico y de FRETTS, se realiza una curva de calibración en cada corrida. Son técnicas manuales que requieren personal entrenado y demandan aproximadamente 3,5 horas en el caso del ELISA cromogénico y 1 hora en el caso de FRETTS. Los límites de detección son de 0,2-0,5 % y 3-6 % de actividad de ADAMTS-13, respectivamente. FRETTS tiene como desventaja que requiere de un espectrofluorómetro y un programa informático específico.

Con respecto al HemosIL AcuStar ADAMTS13 activity assay, es una técnica muy prometedora, ya que es altamente sensible y específica, totalmente automatizada, que requiere sólo 33 minutos para un resultado pero necesita de un autoanalizador específico: ACL AcuStar™ (Instrumentation Laboratory) que no está actualmente disponible en todos los países. Además necesita más estudios de validación contra los métodos de referencia. En este caso, el límite de detección es de 0,2-0,5 % de actividad de ADAMTS-13.

Tanto el ensayo cromogénico, como el FRETTS y el HemosIL AcuStar presentan una alta concordancia para detectar valores menores al 10 % de actividad de ADAMTS-13, que es el valor de corte definido internacionalmente para diagnosticar deficiencia severa de ADAMTS-13. Sin embargo para valores superiores se observan algunas discrepancias⁽³⁾.

En todos los ensayos, los resultados pueden ser expresados como porcentaje o como actividad de ADAMTS-13 (IU/ml).

Valores de referencia

Los valores de referencia para la actividad de ADAMTS-13 son muy variables y dependen del método utilizado y de la población en estudio, por lo cual se recomienda que cada laboratorio determine su propio rango de referencia.

Se considera normal un valor de actividad de ADAMTS-13 mayor a 40-50 % y se ha observado en general que los valores poblacionales oscilan en el rango de 90-110 %⁽⁴⁾.

Utilidad clínica

La principal utilidad de la medición de la actividad de ADAMTS-13 es para el **diagnóstico diferencial de las MAT**.

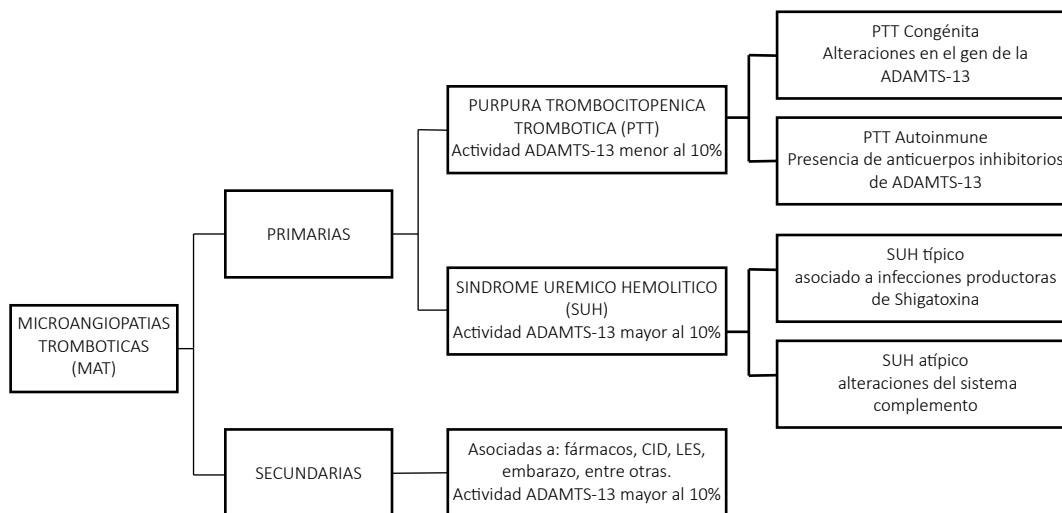
Las MAT son un conjunto de entidades que se caracterizan por la presentación de anemia hemolítica microangiopática, con presencia de esquistocitos en el frotis de sangre periférica, presencia de marcadores característicos de hemólisis (elevación de reticulocitos, lactato deshidrogenasa [LDH] y bilirrubina indirecta y disminución o ausencia de haptoglobina, entre otros) y trombocitopenia de intensidad variable. Para el diagnóstico diferencial, la historia clínica del paciente juega un rol importante. Pueden diferenciarse en primarias y secundarias (Cuadro 1). Tanto las **PTT adquiridas como congénitas** se presentan con deficiencias severas en la actividad de ADAMTS-13, por lo general menor al 10%, y se consideran una emergencia médica, ya que la mortalidad a las 24 horas alcanza un 90% si el paciente no es tratado, mientras que con el tratamiento ésta disminuye al 10-20%. Es por esta razón que, ante la sospecha de esta patología basándose en la historia clínica, el examen del paciente y el frotis de sangre periférica, se comienza con tratamiento empírico de plasmaféresis inmediatamente, aún sin contar con el valor de actividad de ADAMTS-13. Consecuentemente, la **utilidad clínica de la determinación de la actividad de ADAMTS-13 para diagnóstico de la enfermedad** en la urgencia médica es limitada, y esto es debido a que no se disponen de métodos de laboratorio que sean los suficientemente rápidos

para ayudar en ese momento. Aun así, la toma de muestra, previo a la plasmaféresis en el tratamiento empírico, es de utilidad, porque ayuda al diagnóstico diferencial de las MAT y esto es beneficioso porque permite optar por el tratamiento más adecuado en cada caso.

A su vez, la determinación de la actividad de la metaloproteasa resulta **útil durante el seguimiento del paciente en el tratamiento y en los períodos de remisión de la enfermedad**, ya que es un buen indicador de riesgo de recaídas y recurrencias, adelantándose a la clínica del paciente.

En otras MAT, como en el caso del síndrome urémico hemolítico (SUH), tanto típico como atípico, si bien se observa una disminución de ADAMTS-13, estos valores se encuentran por encima del 10%. De igual manera, las MAT secundarias asociadas a distintas condiciones clínicas como enfermedad hepática, estados inflamatorios agudos, coagulación intravascular diseminada, síndrome antifosfolipídico catastrófico, consumo de determinados fármacos, enfermedades del tejido conectivo, preeclampsia, infección por VIH, neoplasias y embarazo, entre otras, se presentan con niveles normales o disminuidos de actividad de la metaloproteasa, variables según la patología asociada, pero mayores al 10%. Por todo lo mencionado, la búsqueda de nuevos métodos rápidos y sensibles que ayuden en el diagnóstico temprano de estas patologías es uno de los objetivos primordiales para poder aplicar el tratamiento más adecuado para cada una de ellas.

Cuadro 1. Clasificación de las microangiopatías trombóticas



Conflictos de interés: Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

1. Kremer Hovinga JA, Coppo P, Lammle B, Moake JL, Miyata T, Vanhoorelbeke K. Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17020.
2. Scully M, Cataland S, Coppo P et al. Consensus on the standardization of terminology in thrombotic thrombocytopenic purpura and related thrombotic microangiopathies. *J Thromb Haemost*. 2017;15:312-22.
3. Valsecchi C, Mirabet M, Mancini I et al. Evaluation of a New, Rapid, Fully Automated Assay for the Measurement of ADAMTS13 Activity. *Thromb Haemost*. 2019;119:1767-72.
4. Contreras E, de la Rubia J, Del Rio-Garma J et al. [Diagnostic and therapeutic guidelines of thrombotic microangiopathies of the Spanish Apheresis Group]. *Med Clin (Barc)*. 2015;144:331 e1- e13.



Atribución – No Comercial – Compartir Igual (by-nc-sa): No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original. Esta licencia no es una licencia libre.

¿Cabe un tratamiento con ruxolitinib en el síndrome respiratorio agudo severo por COVID-19?

Dr Claudio Marcelo Iastrebner

*Médico Hematólogo
Docente Adscripto UBA*

miastrebner@gmail.com



**CORREO
DE LECTORES**

HEMATOLOGÍA
Volumen 24 N° 1: 101-103
Enero - Abril 2020

En diciembre de 2019 se reporta por primera vez una infección del tracto respiratorio atribuida a un nuevo virus que primero fue descrito como neumonía de etiología desconocida, pero luego se supo que se trataba de un coronavirus. En febrero de 2020 la OMS lo denomina “COVID-19”, un acrónimo de “enfermedad por coronavirus 2019”⁽¹⁾ y en marzo de 2020 declara la “pandemia”. Una de las principales preocupaciones de esta afectación es la mortalidad, que oscila entre 0.5 y 10%, con tasas de hospitalización entre el 10-20%, según diferentes países. La capacidad de contagio es sumamente alta con tasas de reproducción de 2.2, esperándose así un incremento exponencial del virus en la comunidad^(2,3).

La transmisión se da de humano a humano. La proteína S del coronavirus se une a las células huésped mediante el receptor de angiotensina tipo 2 (ACE2) fusionándose con la membrana celular y liberando el ARN viral. A nivel intracelular, el ARN es identificado y usualmente reconocido mediante receptores tipo Toll (TLR) 3, 7, 8 y 9. El receptor de ARN tipo gen inducible por ácido retinoico (RIG-I), receptor de melanoma citosólico asociado a diferenciación tipo 5 (MDA5) y nucleotidiltransferasa cíclica GMP-AMP sintetasa (cGAS) son los responsables del reconocimiento del ARN viral. Estos complejos celulares generan diversas cascadas de señalización que activan factores de transcripción nuclear tipo factor-KB (NF-KB) y factor regulatorio de interferón (IRF3) con la producción de interferones tipo I (IFN-a/b) y una serie de citoquinas proinflamatorias⁽⁴⁾.

Así pues, la respuesta inmune es vital para la resolución de la infección pero, si ésta evoluciona fuera

de control, se transforma en la propia causante de la gravedad. Se han observado diversas citoquinas elevadas en pacientes con COVID-19: IL-1, IL-6, IL-2, IL-4, IL-7, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, GCSF, factor estimulante de colonias de monocitos (MCSF), MCP-1, MIP-1 α , factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), IFN- γ y TNF- α . Varios reportes anatomopatológicos de autopsias evidenciaron una respuesta inflamatoria importante en las vías aéreas inferiores con subsecuente lesión pulmonar. La tormenta de citoquinas es originada por la invasión de la mucosa respiratoria y, luego, por la respuesta inmune desencadenada⁽⁵⁾.

Muchas citoquinas confluyen estimulando la vía de señalización JAK/STAT en respuesta a estímulos inflamatorios sistémicos. En mamíferos, las vías de JAK-STAT (del inglés *Signal Transducers and Activators of Transcription*) están constituidas por cuatro JAK quinasas (JAK 1-3 y tirosina quinasa 2 [TYK2]) y siete STATs (STAT 1-6 con los homólogos STAT5a y b). Las señales de la cascada se inician por la unión de las citoquinas al receptor JAK, el cual es activado por transfosforilación. Una vez activado, STAT se une a su receptor de señales intracelulares para finalmente intervenir en procesos de transcripción y traducción⁽⁶⁾. Incluso, se ha señalado las vías STAT3 y STAT5A como posibles blancos contra el virus⁽⁷⁾.

Los inhibidores del JAK han demostrado ser efectivos en diversas patologías caracterizadas por respuestas inflamatorias desmedidas y lesiones tisulares de diversos órganos. Uno de los ejemplos más claros de esto es el uso del inhibidor de JAK1/

JAK2, ruxolitinib (Jakavi®), en patologías como mielofibrosis, enfermedad injerto contra huésped (EICH) o síndrome hemofagocítico⁽⁸⁾.

Otros datos preclínicos han demostrado que ruxolitinib bloquea IFN- γ y mediante expansión de linfocitos B CD38⁺ CD27⁻ del centro germinal, mientras que tofacitinib (inhibidor de JAK1/3) impide la expansión de células B.

Los estudios clínicos REACH en población con EICH refractaria a esteroides han demostrado respuestas clínicas favorables. El REACH 1 utilizó 5 mg vía oral cada 12 hs y, de no presentar reacciones adversas en los primeros 3 días de tratamiento, se incrementaba la dosis a 10 mg vía oral cada 12 hs. Los estudios REACH 2 y 3 iniciaron directamente con 10 mg cada 12 hs sin observar mayores tasas de toxicidad, por lo que ésta es la dosis que se considera adecuada actualmente para EICH⁽⁸⁾.

Varios son los artículos que reportaron el beneficio de ruxolitinib en síndrome de linfocitosis hemofagocítica (HLH) primaria y secundaria reportados, entre otros, por Tefferi y col. En estos estudios, al igual que como se ha comentado anteriormente, se documentó un descenso en los niveles de citoquinas proinflamatorias post-tratamiento (IL-6, TNF- α , GM-CSF, MCP-1 y MIP-1 α) demostrando ser superior incluso al uso de IFN- γ ⁽⁹⁻¹²⁾.

Otros estudios también demuestran efectividad del inhibidor de JAK 1-2 en patologías como mastocitosis sistémica o dermatomiositis juvenil refractaria con reducción importante en los niveles de IL-6, TNF- α y MCP-1^(13-15,19).

Ruxolitinib se absorbe por mucosa oral con una biodisponibilidad del 95%, alcanzando un pico plasmático en 1-2 horas con vida media de 2.8-3 horas⁽¹⁶⁾. Al ser un medicamento ya conocido en hematología y enfermedades autoinmunes, se ha reportado su uso en situación de síndrome agudo respiratorio severo por COVID-19 en la ciudad de Livorno, Italia,

presentando respuestas favorables sin defunciones y con adecuada tolerancia en 8 pacientes⁽¹⁷⁾.

Por lo mencionado, se justifica realizar un ensayo clínico con la siguiente hipótesis: el ruxolitinib controlaría la respuesta inflamatoria desmedida en el síndrome respiratorio agudo severo por COVID-19 y, de esa manera, disminuiría la proporción de pacientes que progresan y se agravan.

Objetivos planteados: evaluar la eficacia del ruxolitinib en el tratamiento del síndrome respiratorio agudo severo por COVID-19 por medio de la medición de la proporción de pacientes con agravamiento clínico (definido por un requerimiento de FIO₂ \geq 50% y/o requerimiento de asistencia respiratoria mecánica) durante los 14 días posteriores al inicio del tratamiento. Entre otros objetivos se menciona: evaluar el tiempo promedio de estancia intrahospitalaria, la evolución de los parámetros de inflamación sistémica, la tasa de mortalidad, la proporción de requerimiento de ventilación mecánica asistida, las reacciones adversas y la proporción de infecciones secundarias.

Criterios de iniciación de un tratamiento con ruxolitinib: ser portador de infección por SARS-Cov2 confirmado por método validado, firmar un consentimiento informado, presentar síndrome respiratorio agudo severo por COVID-19 manifestado por: frecuencia respiratoria \geq 20/min, saturación de O₂ \leq 93% con FiO₂ al 0,21 e imágenes pulmonares en tomografía o radiografía de tórax compatibles.

Comentario final: como hematólogos se nos presenta una oportunidad de colaborar con el equipo de salud dedicado al tratamiento del Covid-19, ofreciendo nuestros conocimientos y experiencia en el uso de esta medicación. Sin duda, la apertura de un ensayo clínico permitirá responder la hipótesis planteada más arriba.

Bibliografía

1. Cascella M, Rajnik M, Cuomo A, Dulebohn SC, Di Napoli R. Features, Evaluation and Treatment Coronavirus (COVID-19) [Internet]. StatPearls. StatPearls Publishing; 2020 [cited 2020 Mar 26]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32150360>
2. Johns Hopkins CR. Coronavirus COVID-19 Global Cases by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) by Johns Hopkins Coronavirus Re-

source Center [Internet]. 2020 [cited 2020 Mar 26]. Available from: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>

3. Monitor del Covid-19. Cifras, medidas y actualizaciones sobre coronavirus. Ministerio de Salud, Redacción, República Argentina. <https://www.redaccion.com.ar/coronavirus-tablero-con-cifras-medidas-y-actualizaciones-en-tiempo-real/>
4. Dennis McGonagle et al. The Role of Cytokines including Interleukin-6 in COVID-19 induced Pneumo-

- nia and Macrophage Activation Syndrome-Like Disease. *Autoimmunity Reviews* p 1-7 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32251717>
5. Banerjee S et al. JAK-STAT Signaling as a Target for Inflammatory and Autoimmune Diseases: Current and Future Prospects. *Drugs* (2017) 77:521–546 DOI 10.1007/s40265-017-0701-9 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28255960>
 6. Zhou Y, Hou Y, Shen J, Huang Y, Martin W, Cheng F. Cell Discovery Network-based drug repurposing for novel coronavirus 2019-nCoV/SARS-CoV-2. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7073332/pdf/41421_2020_Article_153.pdf
 7. Jagasia M, Zeiser R, Arbushites M, Delaite P, Gadbow B, Von Bubnoff N. Ruxolitinib for the treatment of patients with steroid-refractory GVHD: an introduction to the REACH trials. [cited 2020 Mar 26]; <https://www.futuremedicine.com/doi/pdf/10.2217/imt-2017-0156>
 8. Albeituni S, Verbist KC, Tedrick PE, Tillman H, Picarsic J, Bassett R, et al. Mechanisms of action of ruxolitinib in murine models of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood* [Internet]. 2019 Jul 11 [cited 2020 Mar 26];134(2):147–59. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article/134/2/147/260697/Mechanisms-of-action-of-ruxolitinib-in-murine>
 9. Zinter MS, Herminston ML. Calming the storm in HLH. *Blood* [Internet]. 2019 Jul 11 [cited 2020 Mar 26];134(2):103–4. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article-pdf/134/2/103/1553887/bloodbld2019001333c.pdf>
 10. Sin JH, Zangardi ML. Ruxolitinib for secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis: First case report. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*. 2019 Sep 1;12(3):166–70. <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S165838761830116X?token=A5F61E3EC545FCE2A974769770B4C89C51A6F709445D8025AF6368AD7835EBE1B0ED05F35920448FA67EA2B2D6290DCC>
 11. Slostad J, Hoversten P, Haddox CL, Cisak K, Paludo J, Tefferi A. Ruxolitinib as first-line treatment in secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis: A single patient experience. Vol. 93, *American Journal of Hematology*. Wiley-Liss Inc.; 2018. p. E47–9. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29134683>
 12. Fioranelli M, Rocchia MG, Lotti T. Treatment of dermatomyositis with ruxolitinib. *Dermatol Ther* [Internet]. 2016 Jul 1 [cited 2020 Mar 26];29(4):285. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/dth.12308>
 13. Aeschlimann F, Frémond M-L, Duffy D, Rice GI, Charuel J-L, Bondet V, et al. A Child With Severe Juvenile dermatomyositis Treated With Ruxolitinib. *Brain*. 2018 Oct 15;141:1–5.
 14. Hermans MAW, Schrijver B, van Holten-Neelen CCPA, Gerth van Wijk R, van Hagen PM, van Daele PLA, et al. The JAK1/JAK2- inhibitor ruxolitinib inhibits mast cell degranulation and cytokine release. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2018 Nov 1 [cited 2020 Mar 26];48(11):1412–20. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/cea.13217>
 15. Jakafi (ruxolitinib) dosing, indications, interactions, adverse effects, and more [Internet]. [cited 2020 Mar 26]. Available from: <https://reference.medscape.com/drug/jakafi-ruxolitinib-999703>
 16. Ternavasio-De La Vega HG, Castaño-Romero F, Ragozzino S, Sánchez González R, Vaquero-Herrero MP, Siller-Ruiz M et al. Coronavirus, ospedale di Livorno, primi esiti positivi in pazienti trattati con farmaco “anti-terapie intensive” | Città di Livorno [Internet]. [cited 2020 Apr 1]. Available from: <http://www.comune.livorno.it/articolo/coronavirus-ospedale-livorno-primi-esiti-positivi-pazienti-trattati-farmaco-anti-terapie>
 17. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04331665?term=ruxolitinib&cond=Covid&draw=2>
 18. Harrison CM, Vannucci AN. Long-term findings from COMFORT-II, a phase 3 study of ruxolitinib vs best available therapy for myelofibrosis. *Leukemia*. 2016 30 1701:1707 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27211272>
 19. Massimo Gadina, et al. Janus kinases to jakinibs: from basic insights to clinical practice *Rheumatology*. 2019;58:14-16 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6657570/>



Atribución – No Comercial – Compartir Igual (by-nc-sa): No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original. Esta licencia no es una licencia libre.



(1958-2019)

Recordando al Dr. Héctor Longoni

Grand B.

grand.bea2014@gmail.com



IN MEMORIAN

HEMATOLOGÍA
Volumen 24 N° 1: 104-106
Enero - Abril 2020

Palabras claves: Vida del Dr. Héctor Longoni.

Keywords: Life of Dr. Hector Longoni.

Introducción

Una profunda tristeza sentí cuando recibí el mail de la SAH que nos informaba el fallecimiento del Dr. Héctor Longoni. Varias veces lo leí, sin entender que había pasado, no lo podía creer. Héctor estaba con su familia de vacaciones en Chile. Tuvo una descompensación cardíaca y murió. Lo primero que pensé fue “se fue un buenazo”. Son innumerables los calificativos que Héctor tenía, buena persona, buen compañero, humilde, trabajador, buen médico. Así lo expresaron sus pacientes el día de su entierro y sus compañeros de trabajo a través de una carta.

No quería que su partida física quedara solo expresada con un recordatorio formal. Su trayectoria hematólogica es muy rica y tal vez poco conocida por muchos. Su personalidad silenciosa y quizás introvertida ha hecho que su trabajo solo lo conociéramos quienes estábamos cerca suyo. Este pensamiento personal es compartido por varios colegas quienes decidimos juntarnos para recordarlo. De esta manera quedará en las páginas de nuestra revista un reconocimiento por parte de quienes recorrimos este trayecto de su vida. Conocí a Héctor durante el Curso de la SAH de especialista. (Cuadro 1: Promoción 86-87). Éramos 8 alumnos que nos reuníamos semanalmente con el Dr. Sánchez Ávalos, quien dirigía el curso. En ese momento solíamos hacerlo en el Sanatorio Güemes. Un lujo nuestra cursada discutíamos casos clínicos y veíamos preparados. Después cada uno siguió su camino y especialidad dentro de la hematología.

Sus valores serán reconocidos por siempre.

PROMOCION ESPECIALISTAS CURSO SAH 86-87

Alumnos: Beatriz Grand, Jorge Gutiérrez, Héctor Longoni, Patricia Luchetta, Alberto Maneyro, Graciela Pérez, Alejandra Peiro, Esther Rosenfeld

Comité de enseñanza: Dres. Julio Sánchez Ávalos, L. Kordich, F. Molinas, Cavagnaro, A Weschler, Freigeiro.

Su trayectoria

Nació en la ciudad de Buenos Aires un 25 de marzo de 1958. Por la actividad que desarrollaba su padre pasó por varias escuelas en distintos lugares: Isla Martín García, Instituto Inmaculada de Ituzaingo, Base naval de Puerto Belgrano, Colegio Nacional de Punta Alta, Portsmouth Catholic High School, egresando en el colegio Nacional de Punta Alta en 1975.

Se recibió de Médico en la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires (UBA) el 18 de diciembre de 1981. Hizo su Residencia de Medicina Interna en el Hospital Naval Buenos Aires entre 1982 y

1985. En 1986 ingresó al Curso Superior de Médico Hematólogo de la Sociedad Argentina de Hematología. Fue médico de planta del Servicio de Hematología del Hospital Naval Buenos Aires entre 1987 hasta 2004. Como hematólogo del Hospital Naval fue uno de los pioneros en el trasplante de médula ósea en la Argentina, integrando el Equipo de Trasplante de Médula Ósea en ese hospital desde 1997 hasta el año 2000. Siendo una persona de carácter amable y afectuoso desarrolló vínculos profesionales en diversos grupos. Uno de ellos fue el grupo del Dr. Bart Barlogie de la Universidad de Little Rock, Arkansas. En 1992 pasó allí varios meses entrenándose en todo lo referente al trasplante de médula ósea. En aquel lejano lugar cultivó varias relaciones de amistad, particularmente con el Dr. David Vesole y con el Dr. Sundar Jagannath gracias a lo cuál se abrieron las puertas de esa Universidad para que otros médicos argentinos fueran a entrenarse allí en esa especialidad. Su esfuerzo personal posibilitó que algunos de estos colegas fueran destacados invitados en varias oportunidades para distintos eventos científicos en nuestro país. Es de resaltar también la generosidad y cordialidad de Héctor y familia que abrieron las puertas de su hogar en más de una oportunidad para recibir y dar alojamiento a estos colegas/amigos que venían de países lejanos. Héctor se dedicó además con gran entusiasmo a la tarea de criopreservación de células progenitoras lo que lo llevó a tener un especial reconocimiento en esa área.

Realizó sus primeras experiencias en esa práctica en el Hospital Naval Buenos Aires en conjunto a una estimada colega, la Dra. Elvira Pastorino Aubry quien fuera esposa de nuestro estimado colega: el Dr. Osvaldo Gioseffi por quien Héctor sentía gran cariño y admiración. Héctor fue encargado de la sección de Criopreservación de ese hospital desde mayo 1992 hasta 2004. Posteriormente esa misma tarea lo llevó a trabajar y a hacer investigación clínica y docencia en distintos grupos de trasplante, siendo durante los últimos ocho años el encargado de la sección de criopreservación en el Sanatorio Sagrado Corazón.

Su última actuación en el ámbito científico la llevó a cabo en agosto de 2018 cuando fuera director del Curso Pre Congreso de Hematología y Trasplante de Médula Ósea llevado a cabo en el 17 Congreso Internacional de Medicina Interna del Hospital de Clínicas "José de San Martín" de la UBA donde gracias a su esfuerzo y dedicación pudimos disfrutar de interesantes conferencias de los Dres. Sundar Jagannath, del Dr. Daniel Couriel y del Dr. Andrea Bacigalupo.

En dicha oportunidad pudimos también asistir a la presentación del trabajo de investigación efectuado por el Dr. Longoni y colaboradores sobre "Autotrasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas de sangre periférica conservadas a 4°C."

Su trayectoria como Jefe de Trasplante de Médula Ósea del Hospital de Clínicas y el recuerdo de sus compañeros de hospital.

En marzo del año 2000 en virtud de su amplia experiencia en trasplante de médula ósea fue convocado para sumarse al equipo de la Unidad de Trasplante de Médula Ósea del Hospital de Clínicas de la Universidad de Buenos Aires.

En el año 2006 tomó el legado como Jefe de Unidad. Fue un hombre de amplios conocimientos y de una larga trayectoria al servicio de otros, quien nunca bajo sus brazos, quien sabía priorizar al paciente con la lucidez y la templanza que sólo un hombre íntegro puede mediar por más álgida que fuese la situación dentro de un hospital público abierto a la comunidad.

Deseamos dar un merecido reconocimiento a ese hombre quien mantuvo su firme creencia de no ser necesario "un protagonismo" para trascender, quien generaba empatía por su sencillez, su humildad y su convicción de asistencia al prójimo.

Siempre lo recordaremos querido "Doc" por su trabajo diario. El 2019 será sin dudas recordado por todos nosotros como un año de profunda tristeza, como un año de transformación donde aprendimos de la importancia del hoy y del ahora, del presente, de expresar lo que sentimos por el otro sin dejarlo librado al azar o a la mera especulación de darlo por sentado, donde nos preguntamos en reiteradas oportunidades en los últimos meses si realmente le habíamos manifestado el orgullo y el cariño que sentíamos y que perdurará en el tiempo, agradeciendo a la vida habernos dado la oportunidad de cruzarnos en su camino colmado de enseñanzas. Todo su equipo de TMO del Hospital de Clínicas, (médicos, secretaria, enfermeros, supervisores, licen-

ciados, mucamos y ex-compañeros), le decimos “Gracias, nos reencontraremos cuando el destino así lo decida”.

Lo recuerdan sus amigos y colegas

Lo recuerda la Dra. Patricia Luchetta: Tuve la suerte que nuestras vidas se cruzaran. Juramos como médicos el mismo día en el Aula Magna de la Facultad de Medicina. Pude asistir a su casamiento con Julita y verlo formar una familia maravillosa. Compartir sus famosos cafecitos en Pinamar siempre rodeado de sus amigos. Debo destacar su increíble sentido del humor y bromas de las cuales frecuentemente yo era participe y siempre caía. Fue un Hombre de bien, excelente padre, amigo, medico, Tus colegas te vamos a extrañar.

Su amigo y compañero de consultorio. Palabras del Dr. Jorge Gutierrez:

.... tan inesperada fue tu partida que algunas veces pienso que cualquier día de estos te veré caminando por la calle Larrea...

No hay palabras que reflejen lo que siente cualquiera de nosotros ante la desaparición de un ser querido, eso mismo me ocurre mientras intento escribir estas líneas dedicadas con enorme afecto al querido Héctor. Fue un ser humano con un buen corazón y el reflejo de ello se manifestaba en su excelencia como persona, como profesional y en el cariño que sus pacientes tienen por él.

Como anécdota escribo aquí un corto relato: ...al compartir temas laborales sucedía cada tanto que lo llamaba por teléfono a su casa y él siempre me atendía cordialmente. Sólo había algo que yo debía tener en cuenta antes de llamarlo y era que mi llamado no fuera cuando jugaba su amado River, ya que en ese momento no se lo podía interrumpir.

Héctor fue una persona íntegra, totalmente dedicada a su tarea profesional yendo y viniendo entre el hospital, los sanatorios y el consultorio, con pasión, entusiasmo y sobre todo a través de su saber profesional poniendo su corazón al servicio de aquel que lo necesitara.

A su familia le hacemos llegar este homenaje y que sepan que Héctor seguirá con nosotros en el recuerdo permanente de los tiempos compartidos: para Julita, María Emilia, María Agustina, María Sofía y Juan Francisco.



Atribución – No Comercial – Compartir Igual (by-nc-sa): No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original. Esta licencia no es una licencia libre.

Células neoplásicas de un carcinoma papilar de tiroides en sangre periférica

Thyroid papillary carcinoma cells circulating in peripheral blood

Rey Deutsch AC, Brodsky AL, Carnelutto NE, Rojas F, Minissale C, Corzo A, Marsol N, Martínez E, Lavalle J

Hospital de Clínicas "José de San Martín"

justinalavalle@gmail.com

Fecha recepción: 27/3/2020

Fecha aprobación: 3/4/2020



IMÁGENES
EN HEMATOLOGÍA

HEMATOLOGÍA

Volumen 24 N° 1: 107-109

Enero - Abril 2020

Palabras claves: carcinoma papilar de tiroides, células tumorales circulantes, sangre periférica.

Keywords: thyroid papillary carcinoma, circulating tumor cells, peripheral blood.

Resumen

Los pacientes con neoplasias sólidas, en especial cáncer de mama, pulmón o colorrectal, pueden presentar células tumorales en sangre periférica. Se presentan imágenes de células tumorales circulantes en sangre periférica de una paciente de 61 años con diagnóstico de carcinoma papilar de tiroides metastásico.

Abstract

Patients with solid tumors, especially breast, lung or colorectal cancer, may show neoplastic cells in peripheral blood. Circulating tumor cells in peripheral blood in a 61 years old woman with a metastatic thyroid papillary cancer are shown.

Introducción

La presencia de células neoplásicas circulantes en sangre periférica fue descrita inicialmente en 1869 por Ashworth en un paciente de 38 años con cáncer metastásico y visualización de las células patológicas al microscopio⁽¹⁾. Hoy la detección de estas célu-

las tumorales circulantes (CTC) se emplea cada vez más para evaluar respuesta y estado de enfermedad en cáncer de mama, pulmón, colorrectal y próstata⁽¹⁾. Estas CTC pueden verse también en otras neoplasias, como el carcinoma papilar de tiroides que, si bien es de buen pronóstico, en algunos casos puede presentar CTC y el número de las mismas tendría impacto en el pronóstico y sobrevida global^(2,3).

Caso Clínico

Paciente femenina de 61 años con antecedentes de hipertensión, tabaquismo, hipotiroidismo y carcinoma papilar de tiroides con metástasis ganglionar y pulmonar. Se le realizó tiroidectomía total + vaciamiento ganglionar cervical lateral izquierdo + traqueoplastia. Al ingreso presentaba un hematocrito de 37%, una hemoglobina (Hb) de 12,4 g/dL, 23.900 glóbulos blancos (GB)/mm³ y 292.000 plaquetas/mm³. En el posoperatorio evolucionó con caída de 10 puntos de hematocrito y hematoma sofocante, que requirió drenaje quirúrgico. Posteriormente presentó fibrilación auricular de alta respuesta ven-

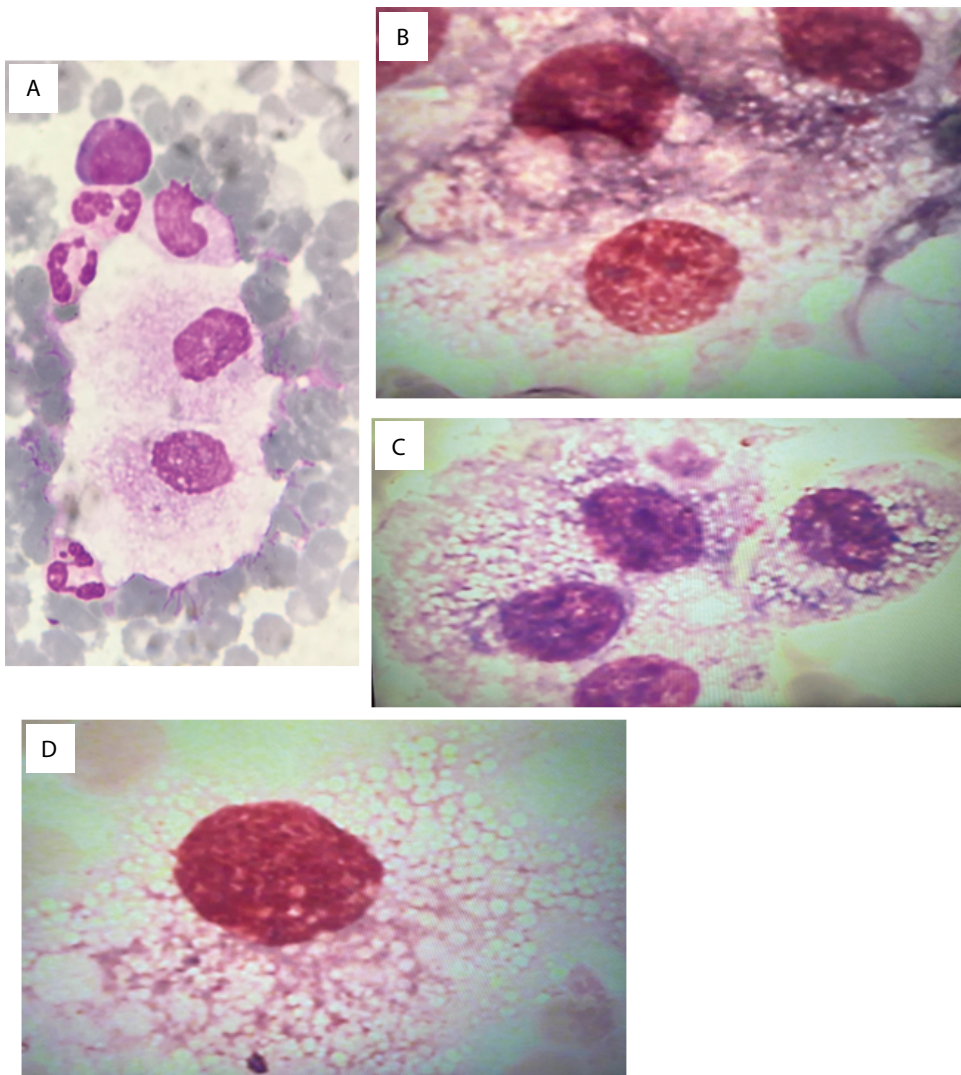
tricular, sepsis a foco respiratorio e infarto agudo de miocardio. Pasó a unidad coronaria, inició drogas vasopresoras, fue intubada y colocada en ARM. En su ingreso a unidad coronaria presentaba un hematocrito de 23%, Hb: 7,8 g/dl, GB: 35.000/mm³ y 30.000 plaquetas/mm³. Evolucionó con plaquetopenia progresiva, llegando a recuentos de 3.000/mm³. El frotis de sangre periférica evidenció una reacción leucoeritroblástica y presencia de células grandes con nucléolo inconspicuo, de relación núcleo-citoplasmática intermedia, agrupadas en acúmulos (Figura 1), y en el aspirado de médula ósea, imágenes compatibles con colgajos con células similares a las descritas en sangre periférica. La citometría de

flujo no evidenció células patológicas de estirpe hematológica. La paciente evolucionó con aumento de requerimientos de vasopresores y falleció por fallo multiorgánico.

Comentario

Si bien la presencia de CTC fue descrita previamente, dados los bajos recuentos celulares no suelen visualizarse en el extendido de sangre periférica, y más excepcionalmente aún en el carcinoma papilar de tiroides, que suele presentarse con estadios localizados^(3,4). Por ello es que comunicamos este caso, en que se pudo identificar a estas células en sangre periférica por microscopía óptica.

Figura 1. A-D: imágenes correspondientes a células tumorales en sangre periférica, algunas agrupadas formando acúmulos. (B y C). May Grunwald Giemsa x 1.000.



Conflictos de interés: Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

1. Sundling KE, Lowe AC. Circulating Tumor Cells: Overview and Opportunities in Cytology. *Adv Anat Pathol.* 2019;26:56-63.
2. Ehlers M, Allelein S et al. Circulating Tumor Cells in Thyroid Cancer. *Horm Metab Res.* 2018;50:602-608.
3. Lin JD, Liou MJ, Hsu HL. Circulating Epithelial Cell Characterization and Correlation with Remission and Survival in Patients with Thyroid Cancer. *Thyroid.* 2018 Nov;28(11):1479-1489.
4. Ehlers M, Allelein S et al. Increased Numbers of Circulating Tumor Cells in Thyroid Cancer Patients. *Horm Metab Res.* 2018 Aug;50(8):602-60



Atribución – No Comercial – Compartir Igual (by-nc-sa): No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original. Esta licencia no es una licencia libre.



ExpoMedical 2020

18va. Feria Internacional de Productos
Equipos y Servicios para la Salud

23.24.25 | SEPTIEMBRE

Centro Costa Salguero. **Buenos Aires, Argentina**



En conjunto con:

19^{nas.}

JORNADAS
de Capacitación
Hospitalaria



El mayor evento profesional
y punto de encuentro para
el equipo de la **Salud.**

☎ (54-11) 4791-8001
✉ info@expomedical.com.ar

f in @ expomedical
www.expomedical.com.ar

La revista *HEMATOLOGÍA* es el órgano oficial de difusión de la Sociedad Argentina de Hematología (SAH). La versión impresa de Hematología se distribuye gratuitamente a los miembros de la Sociedad Argentina de Hematología, bibliotecas médicas y universitarias. La versión electrónica es de acceso abierto. En ella se publican trabajos relacionados con la especialidad, siempre que se ajusten a los requerimientos científicos y técnicos establecidos por el Comité Editor.

La recepción de trabajos se realizará mediante el sistema OJS en la web oficial de la Revista Hematología: www.revistahematologia.com.ar. Podrán acceder al instructivo y solicitar asistencia a los mails allí indicados. Ningún trabajo será recepcionado por fuera del sistema.

La Revista Hematología publica 3 números ordinarios por año y 1 o 2 suplementos extraordinarios. Se publican luego de su evaluación artículos originales de investigación científica, revisiones, de pediatría en hematología, de nuevas drogas en hematología, de laboratorio, casos clínicos e imágenes en hematología que no hayan sido publicados en otra revista o medios de divulgación.

Los trabajos son sometidos al arbitraje de dos jueces pertenecientes al comité científico asesor, de trayectoria reconocida en el tema que permanecerán anónimos en un proceso doblemente ciego y abierto de evaluación (el autor no conocerá la identidad del juez, ni el juez la identidad del autor).

Los jueces dentro del mes de recibidos el mismo se expedirán como trabajo aceptado sin modificaciones, aceptado con modificaciones o rechazado. El fallo es inapelable. En caso de discrepancia entre los jueces, se convocará a un tercer juez.

Se admitirá la publicación de trabajos de autores de habla no hispana en idioma inglés.

Actualmente las secciones de la Revista Hematología son:

- 1) Artículos originales
- 2) Yo opino
- 3) Ateneos Anatómico-clínicos de la residencia
- 4) Editorial
- 5) Actualizaciones y/o revisiones
- 6) Hematología Pediátrica
- 7) Drogas Nuevas en Hematología
- 8) Comunicaciones breves
- 9) Laboratorio
- 10) Historia de la Hematología
- 11) Reportes de casos, Resolución de problemas clínicos
- 12) Imágenes en Hematología
- 13) Correo de lectores

1) Los artículos originales deben ser inéditos. No deben haber sido enviados ni presentados simultáneamente a ninguna otra revista antes de conocer la decisión de aceptación o rechazo por parte de la Revista Hematología.

Los manuscritos deberán ser escritos en formato Word a doble espacio, con letras Times New Roman tamaño 12, con márgenes amplios de 3 cm con un máximo de 4.000 palabras, incluyendo tablas y bibliografía. Las tablas y leyendas de las figuras deben ir en páginas separadas del texto principal.

Los trabajos se desarrollarán según el siguiente ordenamiento: a) Título (en castellano y en inglés); b) Resúmenes (en castellano y en inglés); c) Introducción; d) Material y métodos; e) Resultados; f) Discusión; g) Bibliografía.

Título: Deberá ser consignado con mayúsculas y sin abreviaturas, será breve y preciso. En renglón aparte se detallará la nómina de autores, separados por comas, comenzando por el apellido completo e inicial del nombre. A continuación el nombre de la institución (sin abreviaturas) donde se realizó el trabajo, la dirección con código postal, mencionando el país de origen y el correo electrónico del autor responsable.

Resumen: Cada trabajo deberá presentar un resumen en castellano el cual proporcionará por sí mismos una idea concisa de cada uno de los puntos antes mencionados. No debe ser más extensos de 400 palabras. Deberán consignarse 3 a 5 palabras claves al pie del Resumen, utilizando términos del Medical Subjects Headings del Index Medicus.

También deberá incluirse un resumen en inglés incluyendo el título completo del trabajo y 3 a 5 palabras claves.

Introducción: Breve resumen del estado del arte del tema a tratar y los objetivos del trabajo.

Materiales y Métodos: Debe detallar claramente la población utilizada en el trabajo (grupos controles y pacientes), las metodologías empleadas y los métodos estadísticos utilizados en la evaluación de los resultados. En esta sección se debe incluir una declaración que indique la aprobación del comité de ética Institucional o autoridad competente además se debe dejar constancia que se obtuvo de cada paciente el consentimiento informado por escrito y que el protocolo de estudio se realizó conforme a las normas éticas de la declaración de Helsinki 1975.

Resultados: Deberán estar expresados con claridad en forma cuantitativa, utilizando valores numéricos (expresados en las unidades internacionales habituales), tablas y/o gráficos. Las tablas deberán presentarse en hojas individuales, confeccionadas en forma clara. No se aceptarán tablas que ocupen un espacio mayor que el de una página de la Revista.

Las abreviaturas y símbolos deberán estar especificados en el texto o al pie de las tablas.

Discusión: Analiza los resultados y los hechos que tengan relación directa con los mismos, las relaciones entre éstos y el objetivo inicialmente propuesto y su confrontación con los conocimientos establecidos previamente.

Referencias: Los autores son responsables de verificar la exactitud e integridad de las referencias. Sólo se incluirán las referencias que hayan sido consignadas en el artículo, ordenadas numéricamente en forma correlativa. Se hará figurar inicialmente la nómina de autores separados por comas, comenzando por el apellido, seguido por las iniciales de los nombres. Cuando el número de autores sea mayor de 6, se hará mención sólo a los primeros 3 seguidos de la sigla «y col.»; a continuación se consignará el título del trabajo seguido del nombre de la revista en forma abreviada, según lo establezca por el «Index Medicus»; año de publicación, punto y coma, número de Volumen dos puntos, página inicial, guión, página final.



REGLAMENTO DE LA REVISTA HEMATOLOGÍA

HEMATOLOGÍA
Volumen 24 N°1: 111-112
Abril 2020

Ejemplo: Kaldor JM, Day EN, Clarke EA y col. Leukemia following Hodgkin's disease. N Engl. J Med 1990; 322:7-13.

Cuando se trate de libros se harán figurar el nombre del autor/es, título del capítulo, título del libro, editor/es, año de aparición, páginas separadas por guión, agregando el número de edición si no fuera la primera edición, editorial, y ciudad. Ejemplo: Hughes TP and Goidman JM. Chronic myeloid leukemia. Hematology: Basic Principles and Practice. R. Hoffman, El Benz, Sj Shatill, B Ftirie y EJCoben 1991, p 854-869. Churchill Livingstone, Edinburgh.

Las citas deben estar referenciadas en el texto entre paréntesis y en formato superíndice

- 2) La sección Yo opino está destinada a expresar la opinión de un experto sobre un tema controvertido solicitado por el comité editor. La disidencia respecto a esta opinión se podrá dar a través de la sección correo de lectores. La longitud no deberá superar las 3.000 palabras. Deberán ser escritas con el formato grafico de los artículos originales.
- 3) Los ateneos anatómico-clínicos deberán ser escritos con el mismo formato gráfico y se procederá de la misma forma que los artículos originales.
- 4) Las Editoriales serán solicitadas por el Comité Editor. Tendrán título y texto con características de monografía, en lo posible con una extensión que no supere las 2.000 palabras, con un máximo de 5 citas bibliográficas, el nombre del autor, su dirección con código postal y dirección de mail.
- 5) Las Actualizaciones y/o revisiones deberán ser escritas con el formato gráfico de los artículos originales. La longitud no deberá superar las 5.000 palabras.
- 6) La sección Hematología Pediátrica: Estará destinada a revisiones de tópicos hematológicos y casos clínicos en niños. Deberán ser escritas con el formato grafico de los artículos originales.
- 7) La sección Drogas nuevas en Hematología será una actualización acerca de las nuevas drogas utilizadas por la especialidad. Serán solicitadas por el comité editor. La longitud no deberá superar las 3.000 palabras. Deberán ser escritas con el formato grafico de los artículos originales.
- 8) La sección Comunicaciones breves deberán ser escritas con el formato grafico de los artículos originales. La longitud no deberá superar las 2.000 palabras y su resumen no debe ser más extenso de las 200 palabras.
- 9) El Laboratorio en Hematología estará dedicada a realizar una ficha técnica de un ensayo utilizado en los laboratorios de Hematología. Será solicitado por el comité editor. Deberá expresar introducción fundamento del ensayo, Características pre analíticas y analíticas del mismo, valores de referencia y su utilidad clínica y hasta 4 citas bibliográficas. La longitud no deberá superar las 3.000 palabras. Deberán ser escritas con el formato grafico de los artículos originales.
- 10) La sección Historia de la Hematología deberán ser escritas con el formato grafico de los artículos originales esta destinada a divulgar la evolución de la Hematología en Argentina. La longitud no deberá superar las 4.000 palabras. Deberán ser escritas con el formato grafico de los artículos originales
- 11) Los Reporte de casos - Resolución de problemas clínicos no deberán exceder de 8 citas bibliográficas. Deberán ser escritas con el formato grafico de los artículos originales.
- 12) Las Imágenes en Hematología: estará constituido por material fotográfico en colores de excelente calidad destinado a exponer temas de diversa índole. La longitud no deberá superar las 1000 palabras y se desarrollarán según el orden siguiente: Título, texto conciso, imagen, nombre del autor/es. Podrá agregarse hasta 4 citas bibliográficas. Deberán ser escritas con el formato grafico de los artículos originales.
- 13) En la sección Correo de lectores se publicarán opiniones sobre situaciones clínicas y experiencias que puedan relacionarse o no con los artículos publicados en la Revista, con sentido crítico, objetivo y/o educativo, aceptándose derecho a réplica en caso de opinar sobre algún trabajo publicado. La longitud no deberá superar las 1.000 palabras (hasta 4 citas bibliográficas).

Conflicto de Interés

La responsabilidad por el contenido, afirmaciones y autoría de los artículos publicados pertenece exclusivamente a sus autores, los cuales deben aclarar por escrito si existe algún conflicto de interés. Todos los integrantes deben exponer al pie su "disclosure". Todas las presentaciones en publicaciones de la Revista Hematología desde el primer número del año 2013 deberán incluir un párrafo al final del manuscrito donde se especifique la declaración de conflictos de interés de acuerdo al modelo adjunto .

NO esta permitido que el trabajo enviado a Hematología sea enviado a otra revista

El modelo adaptado de normas para conflicto de interés propuesto por la Comisión Directiva de la SAH se ha basado en el de la Sociedad Americana de Hematología y contiene el mismo formato que muchas prestigiosas revistas de nuestra especialidad. Hacemos referencia a todas las actividades vigentes y a las realizadas en último año.

Se reconocen diferentes categorías de conflicto que detallamos:

- 1) Empleado
- 2) Consultor
- 3) Propiedad accionaria
- 4) Fondos de Investigación por estudios propios (La norma NO incluye a los protocolos de investigación de fase II a IV multicéntricos, nacionales o Internacionales)
- 5) Honorarios por conferencias (Speaker)
- 6) Miembro de Comité Asesor (Advisory Board)

Cesión de derechos de autor

Todo el material publicado en la revista Hematología (versión electrónica y versión impresa), será cedido a la Sociedad Argentina de Hematología. De conformidad con la ley de derecho de autor (ley 11723) se les enviara a los autores de cada trabajo aceptado formulario de cesión de derechos de autor que deberá ser firmado por todos los autores antes de la publicación.

Los autores deberán retener una copia del original pues la revista, no acepta responsabilidad por daños o pérdidas del material enviado. Los autores deberán remitir una versión electrónica al correo: revista@sah.org.ar

Sociedad Argentina de Hematología, Comité Editor de HEMATOLOGÍA

Julián Álvarez 146 - 1414 - C. A. de Bs. As. - Argentina

E-mail: sah@sah.org.ar /// revista@sah.org.ar

The journal *HEMATOLOGÍA* is the official body of communication of the Argentinean Society of Hematology (SAH). The printed version of *HEMATOLOGÍA* is distributed free of charge to members of the Argentinean Society of Hematology and to medical and university libraries. The electronic version is completely free of access.

The reception of articles will be done through the OJS system in the official website of the *REVISTA HEMATOLOGÍA*: www.revistahematologia.com.ar. You can access the instructions and request assistance to the mails indicated. No article will be received outside the OJS system. This journal publishes hematology-related works, provided they meet the scientific and technical requirements set by Editorial Board. The journal releases 3 ordinary issues per year plus one or two extraordinary supplements.

After their evaluation, the journal publishes original articles related to scientific research, reviews, pediatrics in hematology, new drugs in hematology, laboratory, clinical cases and images in hematology that have not been published in another magazine or media.

All original works undergo arbitration by two judges, members of the Scientific Advisory Committee, professionals with recognized expertise on the matter that will remain anonymous in a double-blind and open process of evaluation (the author does not know the identity of the reviewer, nor the reviewer the identity of the author).

Within a month of submission, the judges will issue the work as: approved without modifications, approved with modifications or rejected. This decision is final. In case of disagreement between the judges, a third one will be summoned.

The journal accepts the publication of works from non-Spanish speaking authors in English.

Currently, the sections of the journal *HEMATOLOGÍA* are:

- 1) Original articles
- 2) My opinion
- 3) Anatomico-clinic discussion of the hematology fellowships
- 4) Editorial
- 5) Updates and/or revisions
- 6) Pediatric Hematology
- 7) New Drugs in Hematology
- 8) Brief communications
- 9) Laboratory
- 10) History of Hematology
- 11) Case reports, clinical problem resolution
- 12) Imaging in Hematology
- 13) Letters to the Editor

1) Original articles submitted for publication must be unprecedented and must not have been submitted to any other publication. Simultaneous submission should also be avoided as long as the article is under review from the Journal *HEMATOLOGÍA*.

Works should be typed on Word format, double-spaced, Times New Roman, size 12 typeface, with 3-cm wide margins and a maximum of 4 000 words, including tables and bibliography. Tables and figure legends must go in separate pages from the main text.

Works must be developed according to the following arrangement: a) Title (in Spanish and English); b) Abstract (in Spanish and English); c) Introduction; d) Materials and Methods; e) Results; f) Discussion; g) Literature cited.

Title: Write the title in capital letters without abbreviations; it should be brief and precise. In a separate line, list the authors separated by commas: the complete last name first, and then the initial of the name. Then, detail the name of the institution (without abbreviations), the place where the work was carried out, the address and P.O. box, the name of the source country and the author's e-mail.

Abstract: Works should include an Abstract in Spanish that must provide a concise idea of each of the items mentioned above. It should not exceed 400 words. Include a footnote of 3 to 5 keywords in the Abstract, using terms of the Medical Subjects Headings from Index Medicus.

You should also include an Abstract in English, specifying the complete title of the work and 3 to 5 keywords.

Introduction: It is a brief summary of the state of the art of the subject to be addressed and the objectives of the work.

Materials and Methods: Clearly describe the study population used in the work (control and patient groups), the methodology used and the statistics methods employed in the result assessment. In this section you must include a statement indicating the approval of the institution's Ethics Committee or relevant authority. In addition, you should also state that a written informed consent was obtained from every patient and that the study protocol was performed according to the ethics standards of the 1975 Declaration of Helsinki.

Results: The results must be clearly expressed in quantitative form, using numerical values (using standard international units), tables and/or graphics. Tables should be clear and presented on individual pages. Tables exceeding the size of a page of the Journal will not be accepted. Abbreviations and symbols must be specified in the text or on table footnotes.

Discussion: This section analyses the results and facts directly related to them, the relationship between the results and the objectives initially stated and their comparison with previous established knowledge.

References: The authors are responsible for checking the accuracy and integrity of the references. Only include the references mentioned in the article; they must be in numerical order and consecutively arranged. You must list the names of the authors first, separated by commas: last name first, followed by the initials of the first name. If the authors are more than 6, only mention the first 3 followed by the acronym «et.al.». Then, write the title of the article followed by the abbreviated name of the journal according to the «Index Medicus»; the year of issue, semicolon, Volume number, colon, first page, dash, last page. Eg. *Kaldor JM, Day EN, Clarke EA et al. Leukemia following Hodgkin's disease. N Engl J Med 1990; 322:7-13.*

If the reference is a book, indicate: the name of the author/s, chapter title, book title, editor/s, publication year, page numbers separated by dash, issue number if this is not the first edition, publishing house and city. Eg. *Hughes TP and Goidman JM. Chronic myeloid leukemia. Hematology: Basic Principles and Practice. R. Hoffman, El Benz, Sj Shatill, B Fitrie y EJCoben 1991, p 854-869. Churchill Livingstone, Edinburgh.*

Quotes must be referenced in the text between parentheses and using superscript format.



HEMATOLOGY JOURNAL REGULATIONS

HEMATOLOGÍA
Volumen 24 N°1: 113-114
Abril 2020

- 2) The section "My opinion" expresses the opinion of an expert about a controversial issue commissioned by the Editorial Board. Disagreement with this opinion can be expressed through the section "Letters to the Editor". This section has a maximum of 3 000 words. You must use the graphic format of the original article.
- 3) The anatomico-clinic discussions of the hematology fellowships must follow the same graphic format and guidelines as the original articles.
- 4) Editorials are commissioned by the Editorial Board. The title and text should be similar to that of a monograph, not exceeding 2 000 words with a maximum of 5 literature references, indicating the name of the author, his/her address, P.O. box and e-mail address.
- 5) Updates and/or revisions must follow the graphic format of the original articles. It should not exceed 5 000 words.
- 6) The section "Pediatric Hematology" reviews topics related to hematology and clinical cases in children. It must follow the graphic format of the original articles.
- 7) The section "New drugs in Hematology" is an update on new drugs used in this specialty. It is commissioned by the Editorial Board. Extension should not exceed 3 000 words and it must follow the graphic format of the original articles.
- 8) The section "Brief communications" must follow the same graphic format as the original articles. It should not exceed 2 000 words and its abstract should not be longer than 200 words.
- 9) The section "Laboratory in Hematology" presents a data sheet of a trial used in Hematology laboratories. It is commissioned by the Editorial Board. It must present an introduction, the basis for the trial, pre-analytical and analytical characteristics, reference values and its clinical interest, and up to 4 literature references. Extension should not exceed 3 000 pages. It must follow the same graphic format as the original articles.
- 10) The section "History of Hematology" must follow the same graphic format as the original articles and is intended to divulge the development of Hematology in Argentina. Its extension should not exceed 4 000 words.
- 11) The section "Case reports, clinical problem resolution" should not exceed 8 literature references. It must follow the same graphic format as the original articles.
- 12) "Imaging in Hematology" consists of high quality, in color, photographic material, intended to present diverse issues. It should not exceed 1 000 words and it must be developed in the following order: title, concise text, image, name of the author/s. You can add up to 4 literature references. It must follow the same graphic format as the original articles.
- 13) The section "Letters to the Editor" features opinions on clinical conditions and experiences that might or might not relate to the articles published in the Journal, with a critical, objective and/or educational criterion, accepting the right to rebuttal if it is an opinion about a published work. Extension should not exceed 1 000 words (and up to 4 literature references).

Conflicts of interest

Authors are exclusively responsible for the content, statements and authorship of the published articles, and they must include a written statement clarifying if there is any conflict of interest involved. All participants must include their disclosure in a footnote. From its first edition in 2013, all submissions to be published in the Journal *HEMATOLOGÍA* must include a paragraph at the end of the work where the declaration of conflicts of interest is specified according to the attached model.

You are NOT allowed to send the work that was submitted to *HEMATOLOGÍA* to another journal or publication.

The adapted model of the standards for conflicts of interest proposed by the SAH Board of Directors is based on that of the American Society of Hematology and bears the same format as several prestigious journals of our specialty. We refer to all current activities and those carried out last year.

We recognize different categories of conflict as detailed:

1. Employee
2. Consultant
3. Share ownership
4. Research Funds for our own studies (the standard does NOT include multicenter, national or international phase II to IV research protocols)
5. Conference fee (Speaker)
6. Advisory Board member

Transfer of copyright

All material published in the journal *HEMATOLOGÍA* (electronic and print version) is transferred to the Argentinean Society of Hematology. In accordance with the copyright Act (Act 11 723), a copyright transfer form will be sent to the authors of approved works, which has to be signed by all the authors before its publication.

Authors should keep a copy of the original since the journal is not responsible for damages or losses of the material that was submitted.

Authors should send an electronic version to the email: revista@sah.org.ar

Argentinean Society of Hematology, Editorial Board of *HEMATOLOGÍA*
 Julián Álvarez 146 - 1414 - CABA - Argentina
 E-mail: sah@sah.org.ar /// revista@sah.org.ar

LA EXPERIENCIA CEREZYME®

UN LEGADO QUE ILUMINA EL CAMINO
POR VENIR

- Eficacia a largo plazo con mejoras demostradas en los parámetros viscerales, hematológicos y óseos.¹⁻⁶
- Perfil de seguridad establecido^{1,2,7,8}
- Más de 20 años de experiencia en el mundo real

Indicaciones de Uso

Cerezyme (imiglucerasa) está indicado para su uso como terapia de reemplazo enzimático a largo plazo en pacientes con diagnóstico confirmado de enfermedad de Gaucher no neuropática (tipo 1) o neuronopática crónica (tipo 3) que exhiben manifestaciones no neurológicas clínicamente significativas de la enfermedad.

Las manifestaciones no neurológicas de la enfermedad de Gaucher incluyen una o más de las siguientes condiciones: anemia (después de la exclusión de otras causas, como la deficiencia de hierro); trombocitopenia; enfermedad ósea (después de la exclusión de otras causas, como la deficiencia de vitamina D); y hepatomegalia o esplenomegalia.

Para visualizar el prospecto aprobado escanee el siguiente código



REFERENCIAS: **1.** Último prospecto aprobado por Disposición ANMAT N° 7342/14 **2.** Mistry PK, Batista JL, Andersson HC, et al. Transformation in pretreatment manifestations of Gaucher disease type 1 during two decades of alglucerase/imiglucerasa enzyme replacement therapy in the International Collaborative Gaucher Group (ICGG) Gaucher Registry. *Am J Hematol.* 2017;92(9):929-939. doi:10.1002/ajh.24801. **3.** Serratrice C, Carballo S, Serratrice J, Stirnemann J. Imiglucerasa in the management of Gaucher disease type 1: an evidence-based review of its place in therapy. *Core Evid.* 2016;11:37-47. **4.** Weinreb NJ, Kaplan P. The history and accomplishments of the ICGG Gaucher registry. *Am J Hematol.* 2015;90(Suppl 1):S2-S5. doi:10.1002/ajh.24054. **5.** Weinreb NJ, Goldblatt J, Villalobos J, et al. Long-term clinical outcomes in type 1 Gaucher disease following 10 years of imiglucerasa treatment. *J Inherit Metab Dis.* 2013;36(3):543-553. doi:10.1007/s10545-012-9528-4. **6.** Weinreb N, Taylor J, Cox T, Yee J, vom Dahl S. A benchmark analysis of the achievement of therapeutic goals for type 1 Gaucher disease patients treated with imiglucerasa. *Am J Hematol.* 2008;83(12):890-895. doi:10.1002/ajh.21280. **7.** Grabowski GA, Barton NW, Pastores G, et al. Enzyme therapy in type 1 Gaucher disease: comparative efficacy of mannosylated glucocerebrosidase from natural and recombinant sources. *Ann Intern Med.* 1995;122(1):33-39. **8.** Sims KB, Pastores GM, Weinreb NJ, et al. Improvement of bone disease by imiglucerasa (Cerezyme) therapy in patients with skeletal manifestations of type 1 Gaucher disease: results of a 48-month longitudinal cohort study. *Clin Genet.* 2008;73(5):430-440. doi:10.1111/j.1399-0004.2008.00978.x.

Para más información sobre el producto dirigirse a la página web de ANMAT <http://anmatvademecum.servicios.pami.org.ar>

Genzyme de Argentina S.A.
Fondo de la Legua 161, Boulogne - B1609JEB
Pcia. de Buenos Aires - Argentina - Tel: 54 11 4708 6900

GZSCO-CERZ.20.04.0102 - Abr20