

HEMATOLOGIA

ARTÍCULO ORIGINAL

Feno-genotipificación de trombocitopenias hereditarias: nuestra experiencia en 50 familias

Neoplasias mieloproliferativas crónicas BCR-ABL negativas, manifestación clínica y evolución. Experiencia en el Hospital Italiano de Buenos Aires

Factores pronósticos en linfomas T: experiencia en una institución

Factores pronósticos en trombocitemia esencial

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Caracterización de la anemia hemolítica autoinmune y utilidad de la prueba de antiglobulina directa monoespecífica en el diagnóstico

ATENEO

Sarcoma mioide mediastinal: un desafío diagnóstico

CASO CLÍNICO

Leucemia promielocítica aguda con compromiso de sistema nervioso central: a propósito de un caso

REPORTES DE CASOS, RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS CLÍNICOS

Uso de plasma de convaleciente en el tratamiento de paciente con neumonía por COVID-19. Reporte de caso

ARTÍCULO ORIGINAL PEDIATRÍA

Leucemia linfoblástica aguda pediátrica, evaluación de enfermedad mínima residual

LABORATORIO

Hemoglobina libre en plasma por espectrofotometría directa

IMÁGENES EN HEMATOLOGÍA

Inclusiones pseudo bastones de Auer en células plasmáticas de un mieloma múltiple IgG kappa



A photograph of three children riding bicycles on a grassy path in a park. The child in the foreground is a young boy with light brown hair, wearing a light blue and white striped polo shirt and dark blue shorts. He is smiling and looking down at his hands on the handlebars of a green and black bicycle. Behind him, two other children are riding blue bicycles, slightly out of focus. The background is a lush green park with trees and sunlight filtering through the leaves.

IMPULSADOS POR NUESTRA PROMESA

Líderes Mundiales en Biotecnología.
Impulsados desde hace más de **100 años**
por la promesa de salvar y mejorar vidas

www.cslbehring.com.ar

CSL Behring
Bioterapias para la vida™

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)

latindex

LILACS

REDIB

SIIC

Biblioteca Virtual en Salud
Brasil

DOAJ DIRECTORY OF
OPEN ACCESS
JOURNALS

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
Bengió, 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
FUNDALU. 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
FUNDALU, CABA, Argentina
Mateos, María Victori
Complejo Asistencial Universitario
de Salamanca/IBSAL. España
McLintock 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
Ponzinibbio, Carlos
Hospital Italiano, Bs. As., Argentina
Prates, Virginia
Hosp. Italiano, La Plata, Argentina
Quiroga, Luis
Hospital Churrua, CABA, Argentina
Rey, Irene
Hospital José María Ramos Mejía,
CABA, Argentina
Riveros, Dardo
CEMIC, CABA, Argentina
Sánchez Ávalos, Julio
Instituto Fleming, CABA, Argentina
Schattnier, 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
Torres, Oscar
Maternidad Sardá. CABA, Argentina
Wannesson, Luciano
Instituto Oncológico della Svizzera Italiana
Bellinzona, Suiza
Zerga, Marta
Hospital Roffo, CABA, Argentina

VOLUMEN 24 N° 2 • Mayo - Agosto 2020 • Publicada en Agosto de 2020 • Buenos Aires, Argentina

Edición: **Sociedad Argentina de Hematología:** Julián Álvarez 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

OPEN ACCESS



En **LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA**
Fase Crónica, Fase Acelerada, y Crisis Blástica,
y **LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA**



PONATIB®

Ponatinib

Un nuevo camino

- Indicado para el tratamiento de pacientes adultos con Leucemia Mieloide Crónica (LMC) en sus fases crónica, acelerada o crisis blástica; o con Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) Ph+, para las cuales no está indicado ningún otro inhibidor de la tirosin-quinasa.¹
- Indicado en el tratamiento de pacientes adultos con LMC T315I+ en sus fases crónica acelerada o blástica; o con Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) Ph+ T315I+.¹

1. Último prospecto aprobado por ANMAT.

Especialidad medicinal autorizada por el
Ministerio de Salud. Certificado N° 59.001/19

 **VARIFARMA**
Compromiso con la calidad
LATINOAMÉRICA

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

HEMATOLOGÍA

ARGENTINA

VOLUMEN 24 Nº 2 • Agosto 2020

CONTENIDO

ARTÍCULO ORIGINAL

Feno-genotipificación de trombocitopenias hereditarias: nuestra experiencia en 50 familias

Heller PG, Goette NP, Marin Oyarzún C, Baroni Pietto MC, Ayala D, Altuna D, Arrieta ME, Arbesú G, Basquiera AL, Bazack N, Bonaccorso S, Brodsky A, Castro Ríos M, Cosentini ML, Donato H, Korin J, Gomez S, Guglielmone H, Lagrotta P, Marti A, Negro F, Rapetti MC, Rosso D, Ponzinibbio C, Veber E, Zerga ME, Molinas FC, Savoia A, Pecci A, Marta RF, Glembotsky AC...... 9

Neoplasias mieloproliferativas crónicas BCR-ABL negativas, manifestación clínica y evolución. Experiencia en el Hospital Italiano de Buenos Aires

Aguilar Vera R., Bendek G., Barzallo M., Schutz N., Brulc E., Perusini M, Kohan D., Valeo M., Nucifora E. 20

Factores pronósticos en linfomas T: experiencia en una institución

Verdie J; Martínez E; Rojas F. 29

Factores pronósticos en trombocitemia esencial

Cijanes Luna EA ; Sarmiento M. 44

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

Caracterización de la anemia hemolítica autoinmune y utilidad de la prueba de antiglobulina directa monoespecífica en el diagnóstico

Toro-Espinosa LA, Jaramillo-Arbeláez P. 55

ATENEO

Sarcoma mieloide mediastinal: un desafío diagnóstico

Pagano Vilar, C; Pintos Márquez, A; Romero, A; Zárate, S. 65

CASO CLÍNICO

Leucemia promielocítica aguda con compromiso de sistema nervioso central: a propósito de un caso

Asson C, González Hobecker M, Stemberg E, Fernández C, Bernard H...... 69

REPORTES DE CASOS, RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS CLÍNICOS

Uso de plasma de convaleciente en el tratamiento de paciente con neumonía por COVID-19. Reporte de caso

Ávila Rueda J, Rabinovich O, Young P, Trimarchi H, Montes A, Jordán R, Martínez J, Finn B, Murias G, Ceresetto J, Duboscq C, Ernst G, Acosta J, Cimillo F, Alvarado G, Sernaque C, Flegler N, Oliveros K, Rivarola S, Stemmelin G..... 73

PEDIATRÍA - ARTÍCULO ORIGINAL

Leucemia linfoblástica aguda pediátrica, evaluación de enfermedad mínima residual

Soria M; Ferraro C; Morán L; Gutiérrez M; Prada S; Gaillard M; Drelichman G..... 80

LABORATORIO

Hemoglobina libre en plasma por espectrofotometría directa

Rosa C, Mereles S, Rigacci M, Colimodio D. 91

IMÁGENES EN HEMATOLOGÍA

Inclusiones pseudo bastones de Auer en células plasmáticas de un mieloma múltiple IgG kappa

Oliveros K, Rivarola S, Sernaque C, Quarchioni M, Avila J, Flegler N, Ceresetto J, Shanley C, Palmer S, Rabinovich O, Stemmelin G. 97

NUEVA TERAPIA APROBADA EN ARGENTINA



IDELIB®
Idelalisib

**NUEVO Y EFICAZ TRATAMIENTO CON MECANISMO
DE ACCIÓN INNOVADOR PARA SÍNDROMES
LINFOPROLIFERATIVOS B**

**PODEROSA EFICACIA EN LINFOMA
FOLICULAR REFRACTARIO**

Idelib (Idelalisib) es una molécula que actúa inhibiendo una enzima celular, la PI3K δ , produciendo la muerte celular y también deteniendo la proliferación de las células que derivan de los linfocitos B malignos:

Idelalisib está indicado:

- ▶ *para ser administrado sin otro medicamento, para el tratamiento de los pacientes adultos con LINFOMA FOLICULAR (LF) que no haya respondido a dos tratamientos anteriores;*
- ▶ *en combinación con otro medicamento, rituximab u ofatumumab para el tratamiento de pacientes adultos con Leucemia Linfocítica Crónica (LLC) que hayan recibido al menos un tratamiento anterior, o bien como primer tratamiento en ausencia del gen 17p o en pacientes que no son adecuados para recibir ningún otro tratamiento con la mutación del gen TP53.*

*Recomendado por la reconocida guía de expertos de la NCCN.

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



VARIFARMA
Compromiso con la calidad
LATINOAMÉRICA

**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

Feno-genotipificación de trombocitopenias hereditarias: nuestra experiencia en 50 familias

Pheno-genotyping of inherited thrombocytopenias: our experience in 50 families

Heller PG^{1,2}, Goette NP¹, Marin Oyarzún C^{1,2}, Baroni Pietto MC^{1,2}, Ayala D^{1,2}, Altuna D³, Arrieta ME⁴, Arbesú G⁵, Basquiera AL⁶, Bazack N⁷, Bonaccorso S⁸, Brodsky A⁸, Castro Ríos M⁹, Cosentini ML¹⁰, Donato H^{11,12}, Korin J¹³, Gomez S¹⁴, Guglielmone H¹⁵, Lagrotta P¹⁶, Marti A¹⁷, Negro F¹⁸, Rapetti MC¹¹, Rosso D^{8,20}, Ponzinibbio C¹⁹, Veber E²⁰, Zerga ME²¹, Molinas FC^{1,2}, Savoia A^{22,23}, Pecci A²⁴, Marta RF^{1,2}, Glembotsky AC^{1,2}.

¹ Instituto de Investigaciones Médicas A. Lanari, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires.

² División Hematología Investigación, Instituto de Investigaciones Médicas (IDIM), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Universidad de Buenos Aires, CABA.

³ Hospital Italiano de Buenos Aires. CABA.

⁴ Hospital "Dr. Guillermo Rawson", San Juan.

⁵ Hospital "Dr. Humberto Notti", Godoy Cruz, Mendoza.

⁶ Hospital Privado Universitario de Córdoba. Córdoba

⁷ Hospital de Niños "Dr. Ricardo Gutiérrez", CABA.

⁸ Hospital de Clínicas "José de San Martín", CABA.

⁹ Consultorios Hematológicos San Isidro, Buenos Aires.

¹⁰ Hospital Materno Infantil "Dr. Héctor Quintana", Jujuy.

¹¹ Hospital del Niño de San Justo, Buenos Aires.

¹² Consultorios de Hematología Infantil, CABA.

¹³ Sanatorio de los Arcos, CABA.

¹⁴ Instituto Modelo de Oncología Clínica. San Juan.

¹⁵ Sanatorio Allende, Córdoba.

¹⁶ Hospital Nacional "Profesor Alejandro Posadas", Buenos Aires.

¹⁷ Hospital "El Cruce", Florencio Varela, Buenos Aires.

¹⁸ Sanatorio Sagrado Corazón, CABA.

¹⁹ Hospital Italiano de La Plata, La Plata, Buenos Aires.

²⁰ Hospital "Pedro de Elizalde", CABA.

²¹ Instituto de Oncología "Angel Roffo", CABA.

²² Instituto para la Salud Materna e Infancia, IRCCS Burlo Garofolo, Trieste, Italia.

²³ Departamento de Ciencias Médicas, Universidad de Trieste, Trieste, Italia.

²⁴ Departamento de Medicina Interna, Fundación IRCCS Policlinico S. Matteo, Universidad de Pavia, Pavia, Italia.

anaglem@gmail.com

Fecha recepción: 26/6/2020

Fecha aprobación: 1/7/2020

TRABAJO PRESENTADO EN SESIÓN PLENARIA EN MARCO DEL XXIV CONGRESO ARGENTINO DE HEMATOLOGÍA - PREMIO INVESTIGACIÓN CLÍNICA



ARTICULO
ORIGINAL

HEMATOLOGÍA
Volumen 24 n° 2: 9-19
Mayo - Agosto 2020

Palabras claves: plaquetas,
trombocitopenias hereditarias,
secuenciación de nueva generación.

Keywords: platelets,
inherited thrombocytopenias,
NGS.

Resumen

Dada la heterogeneidad de las entidades comprendidas en las trombocitopenias hereditarias y la escasez de marcadores distintivos, su diagnóstico constituye un verdadero desafío. El abordaje clásico se basa en la caracterización fenotípica seguida del estudio molecular de genes candidatos, orientado según la sospecha clínica. La introducción de la secuenciación de nueva generación (NGS), que permite evaluar múltiples genes simultáneamente, constituye una alternativa diagnóstica de alto costo, siendo de acceso limitado en nuestro medio. Nos propusimos evaluar la utilidad del abordaje clásico en una cohorte consecutiva de 50 familias y describir la aplicación de NGS en un subgrupo de pacientes sin diagnóstico etiológico luego del enfoque clásico. Mediante el abordaje clásico se efectuó el diagnóstico en 27 (54%) familias. Posteriormente, 8 familias que quedaron sin diagnóstico luego del algoritmo clásico, se evaluaron mediante NGS, identificando el gen causal en 4 de ellas. Considerando ambos abordajes, el rédito diagnóstico fue 31/50 (62%) familias, con la siguiente distribución: 38% desorden relacionado a *MYH9*, 8% síndrome de Bernard-Soulier (4% clásico, 4% monoalélico), 4% síndrome de plaquetas grises, 4% desorden plaquetario con predisposición a leucemia, 6% trombocitopenia relacionada a *ANKRD26*, 2% síndrome Wiskott-Aldrich. Los pacientes en los que no se pudo efectuar un diagnóstico etiológico presentaban trombocitopenia aislada leve, con aumento moderado del tamaño plaquetario y sangrado escaso.

En conclusión, la aplicación de NGS permitió aumentar el rédito diagnóstico, si bien sería necesario ampliar la población estudiada para establecer el valor real de este abordaje en nuestro medio. Por lo tanto, el uso inicial del abordaje clásico, reservándose la aplicación posterior de NGS a los casos que permanecen sin diagnóstico luego de este enfoque, constituiría una alternativa útil en países con pocos recursos, apuntando a un diagnóstico adecuado que posibilite la pesquisa de complicaciones sindrómicas, oriente al tratamiento y consejo genético acertado.

Abstract

Diagnosis of inherited thrombocytopenias represents a true challenge owing to heterogeneity of these disorders and the absence of distinctive features in a substantial proportion of patients. Classical diagnostic approach is based on phenotypic characterization

followed by molecular analysis of candidate genes guided by clinical suspicion. The introduction of next generation sequencing (NGS), that allows multiple genes analysis, is a high-cost alternative with limited access in our country. The aim of this work was to evaluate the utility of the classical approach in a consecutive cohort of 50 families and to describe the application of NGS in a subgroup of patients without an etiological diagnosis after the initial approach.

Through the conventional approach, an etiologic diagnosis was made in 27 (54%) families. NGS was performed in 8 that remained without diagnosis after initial characterization, attaining a diagnosis in 4. Combining both approaches, the diagnostic yield was 31/50 (62%) families: 38% *MYH9*-related disorder, 8% Bernard-Soulier syndrome, 4% gray platelet syndrome, 4% familial platelet disorder with predisposition to leukemia, 6% *ANKRD26*-related thrombocytopenia, 2% Wiskott-Aldrich syndrome. Most patients without diagnosis had isolated macrothrombocytopenia and mild bleeding. NGS increased the diagnostic rate in this cohort, although it would be necessary to expand the population to establish its actual value in our setting. Therefore, the use of the classical approach and subsequent application of NGS in undiagnosed patients would represent a useful alternative in low-income countries, pointing out that a correct etiological diagnosis enables the detection of syndromic complications, appropriate treatment and adequate genetic counseling.

Introducción

Las trombocitopenias hereditarias (TH) constituyen un grupo amplio y heterogéneo de desórdenes caracterizados por una disminución del número de plaquetas. Son causadas por mutaciones germinales en genes que codifican para proteínas claves en la producción y función plaquetaria⁽¹⁾. Si bien la mayoría de las TH son secundarias a una alteración a nivel de la producción plaquetaria, en algunas entidades la sobrevida plaquetaria acortada contribuye a la trombocitopenia. Hasta el momento se conocen más de 33 desórdenes causados por 32 genes diferentes y esta lista continúa en crecimiento (Figura 1)⁽²⁾. El tipo de herencia es variable, incluyendo casos autosómico dominantes, recesivos, ligado al X o mutaciones que se presentan *de novo*. Pueden manifestarse como trombocitopenia aislada, o estar acompañadas de manifestaciones sindrómicas. En algunos casos, además

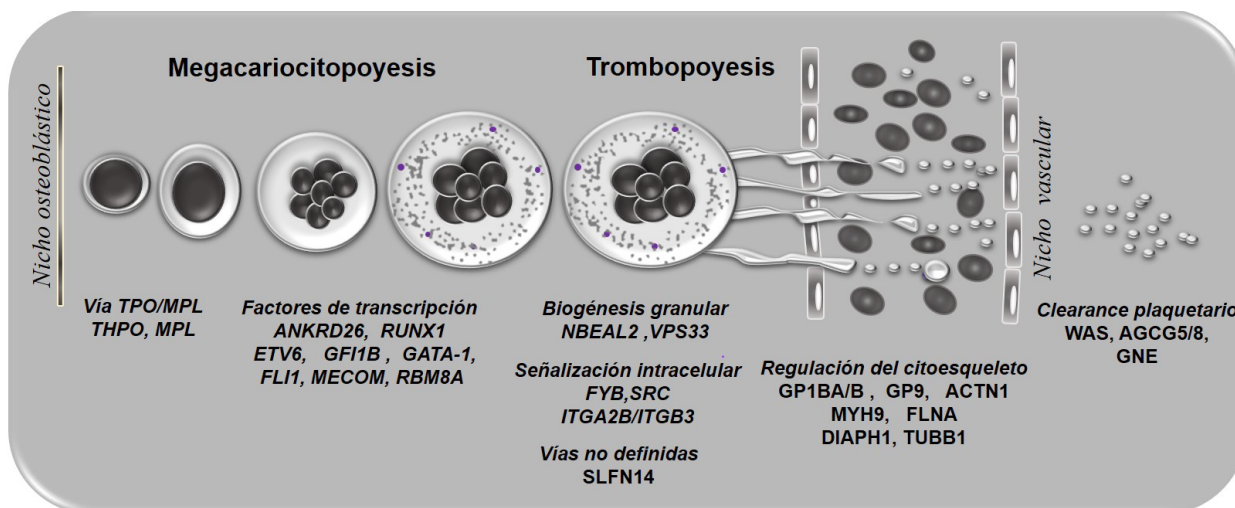


Figura 1. Genes mutados en trombocitopenias hereditarias, agrupados según su rol biológico y el proceso en el que participan⁽³⁾.

de la trombocitopenia, los pacientes tienen alteración concomitante de la función plaquetaria, presentando distintos grados de sangrado. El escaso conocimiento de estas enfermedades lleva a que algunas veces el diagnóstico pase desapercibido y una proporción importante de pacientes se considera erróneamente como trombocitopenia inmune (PTI)^(1,2).

Para abordar el diagnóstico, el *Grupo Italiano de Estudio de la Plaqueta*⁽⁴⁾, ha propuesto un algoritmo reconocido a nivel internacional. Este abordaje clásico se basa en la caracterización fenotípica seguida del estudio molecular del gen candidato, orientado según la sospecha clínica. Sin embargo, aun aplicando este algoritmo, alrededor de la mitad de los pacientes permanece sin diagnóstico etiológico. La complejidad de las metodologías comprendidas en este algoritmo, y el desconocimiento de algunas alteraciones genéticas causales de TH, dificultan la identificación de estos desórdenes, comprometiendo el diagnóstico, el tratamiento adecuado y el consejo genético. En este sentido, la aplicación de tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS) revolucionó el campo del diagnóstico genético, aunque constituye una alternativa de alto costo y de acceso limitado en nuestro medio. NGS puede implementarse mediante el uso de paneles genéticos permitiendo el análisis simultáneo de todos los genes implicados en TH, o por WES (*whole exome sequencing*), metodología que estudia todo el exoma⁽⁵⁾.

Además del riesgo hemorrágico, en algunas entidades existe compromiso de otros órganos o complicacio-

nes graves como nefropatía, hipoacusia, inmunodeficiencia, aplasia medular, mielofibrosis o evolución leucémica. El diagnóstico genético permite pesquisar en forma temprana la aparición de estas posibles complicaciones y prevenirlas en caso de ser factible.

Si bien no existe un tratamiento específico en las TH, los miméticos de la trombopoyetina (eltrombopag y romiplostim), podrían ser útiles en algunas entidades, como el desorden relacionado al gen *MYH9* (D-MYH9)⁽⁶⁾. En algunas entidades particulares, los pacientes pueden ser candidatos a trasplante de médula ósea. Por otro lado, la terapia génica dirigida a la alteración molecular subyacente constituiría una alternativa que actualmente se encuentra en desarrollo. Por lo expuesto, la identificación precisa de la alteración molecular causal permite individualizar el tratamiento, personalizando la atención de los pacientes. Previamente demostramos que, en el contexto de nuestro país, la adopción del algoritmo diagnóstico establecido por el grupo italiano y la colaboración con un centro de referencia experto en este tema nos permitió realizar el diagnóstico de TH en 10/14 familias, hallando en mayor proporción macrotrombocitopenias, especialmente D-MYH9⁽⁷⁾. En base a esto, nos propusimos evaluar la utilidad del abordaje clásico en una cohorte consecutiva de 50 familias y describir la aplicación de NGS en un subgrupo de pacientes sin diagnóstico luego del enfoque inicial, con el objetivo de mejorar el diagnóstico y la atención de pacientes con estas enfermedades raras, apuntando al desarrollo de registros nacionales que faciliten su manejo.

Material y métodos

Pacientes

Se incluyeron en forma consecutiva pacientes que presentaban trombocitopenia en presencia de antecedentes familiares y/o de alguna alteración sugestiva del origen hereditario, que concurrieron al servicio de Hematología Investigación del Instituto Lanari entre el año 1999 y el 2019. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la institución y los pacientes o sus tutores legales firmaron el consentimiento informado correspondiente.

Metodología

La caracterización fenotípica incluyó distintas fases de estudios con complejidad creciente, basadas en el algoritmo diagnóstico propuesto por el grupo italiano⁽⁴⁾.

Estudios de primera fase: tamizaje

Se realizó recuento de plaquetas en cámara de Neubauer y una observación minuciosa del frotis de sangre periférica. Se determinó el volumen plaquetario medio (VPM) mediante contador hematológico automatizado (Sysmex XS1000i), facilitando la clasificación de estas entidades en base al tamaño plaquetario. Luego, se utilizó un programa específico de análisis de imagen para la determinación del diámetro plaquetario medio (DPM). Para esto, a partir de imágenes digitales tomadas de frotis de sangre periférica teñidos con May Grünwald-Giemsa, se midió el diámetro mayor de las plaquetas, promediando la medición en 100 plaquetas⁽⁷⁾.

La evaluación de la función plaquetaria se efectuó mediante agregación plaquetaria por método turbidimétrico de Born, utilizando un lumi-agregómetro donde se incubó plasma rico en plaquetas (PRP) de controles y pacientes, con los agonistas ácido araquidónico, ADP, epinefrina, colágeno, ristocetina y FvW. El estudio de agregación se efectuó solamente en aquellos casos en que el PRP tenía $>100 \times 10^9/L$ plaquetas. Se midieron glicoproteínas de membrana en la superficie plaquetaria, usando anticuerpos monoclonales anti-CD61 (GPIIIa), CD41 (GPIIb), CD42b (GPIb α), CD42a (GPIX) (BD Biosciences, San José, CA, USA) unidos a distintos fluorocromos y posterior análisis por citometría de flujo^(7,8).

Estudios de segunda fase

En las TH con tamaño plaquetario normal se evaluaron los gránulos densos plaquetarios utilizando mepacrina (Sigma-Aldrich, St Louis, USA), quinacrina fluorescente que se une a nucleótidos de adenina por citometría de flujo.

En las macrotrombocitopenias se realizó inmunofluorescencia para la detección de miosina 9, proteína codificada por el gen *MYH9*, en frotis de sangre periférica^(7,9). En presencia de mutaciones en *MYH9*, la miosina 9 se dispone en forma de agregados en el citoplasma de los neutrófilos, lo cual es patognomónico del D-MYH9.

En los casos en los que se observó plaquetas grises en el frotis, se realizó inmunofluorescencia para trombospodina-1 (TSP-1), componente de los gránulos alfa plaquetarios, estableciendo el porcentaje de plaquetas deficientes de gránulos alfa. Se considera deficiencia cuando el contenido es <5 gránulos TSP-1 positivos/plaqueta⁽⁷⁾.

Tercera fase

La fase final confirmatoria consistió en el estudio molecular orientado hacia los genes candidatos según sospecha diagnóstica mediante secuenciación de Sanger.

En un subgrupo sin diagnóstico, luego de aplicado el algoritmo mencionado, se efectuó el estudio exómico mediante NGS. Los estudios genéticos fueron efectuados en colaboración con un centro de Italia (Universidad de Pavia).

Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como mediana y rango. Para comparar dos grupos de datos se utilizó prueba t de Student o de Mann-Whitney según la distribución de los parámetros evaluados. Las curvas de sobrevida se realizaron en base a la estimación de Kaplan-Meier y se compararon por test de *log-rank*. Valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos.

Resultados

Caracterización de la población

Se estudiaron 114 pacientes pertenecientes a 50 familias con sospecha clínica de TH, la mediana de edad fue 25 (rango=0-73) años, siendo 39% niños y 58% mujeres. La mediana del recuento plaquetario

fue $68 (4-172) \times 10^9/L$, y el índice de sangrado, según la escala WHO, fue variable: grado 0=30%, 1=39%, 2=16%, 3=9%, 4=6% de los pacientes. El patrón de herencia fue autosómico dominante en el 83% de los pacientes, recesivo en 8%, ligado al X, 2% y 7% presentación de *novo*. Un 40% de los pacientes recibió diagnóstico inicial de PTI, dos tercios de ellos recibieron corticoides.

En cuanto al tamaño plaquetario, 80% de las familias tuvieron macroplaquetas, 2% plaquetas de tamaño pequeño (microplaquetas), y 18% de tamaño normal. En presencia de macroplaquetas se observó que el recuento obtenido en el contador automatizado fue menor que la mediana del recuento por microscopía óptica $76 (12-172)$ vs. $37 (1-146) \times 10^9/L$, $p < 0,01$, indicando una subestimación del recuento plaquetario al emplear el método automatizado. En esta situación se ve dificultada la determinación del VPM, por lo que la medición del DPM en laboratorios especializados brinda información sobre el tamaño plaquetario siendo $3,42 (1,46-7,36) \mu m$ en la población estudiada (VR: $2,27-3,08 \mu m$).

Rédito diagnóstico

Algoritmo clásico

De acuerdo con el abordaje clásico, que incluye distintas fases que se escalonan en función de la complejidad de las técnicas de laboratorio y el estudio molecular del gen candidato, se realizó diagnóstico etiológico en 27 familias (54%). A continuación, se describen los diagnósticos efectuados en base al algoritmo.

Macrotrombocitopenias

Se diagnosticaron 19 familias con D-MYH9, incluyendo 35 pacientes. La inmunofluorescencia para miosina 9 fue positiva en las 19 familias. En 18 de ellas (95%), existía la sospecha diagnóstica previa a la realización de este estudio, en base al hallazgo de cuerpos de Döhle en el frotis de sangre periférica (13 familias) y/o antecedente familiar (11 familias) y/o compromiso extrahematológico (11 familias), de las cuales 5 tuvieron afección renal e hipoacusia, mientras que 6 sólo hipoacusia. Sólo una paciente (5%) de 1 año de edad no tenía sospecha previa dado que no presentaba cuerpos de Döhle, compromiso extrahematológico ni antecedente familiar. En cuanto a las mutaciones halladas (Figura 2A), con-

firmadas por método de Sanger en 12/19 familias, un 75% se encontraron en la cabeza motora de la miosina, prediciendo mayor gravedad, acompañado de recuentos plaquetarios más bajos (Figura 2B) y mayor probabilidad de compromiso extra hematológico, o evolución de mal pronóstico (Figura 2C y 2D), como está descripto⁽⁹⁾. El estudio molecular se encuentra en curso en las 7 familias restantes, en las que el diagnóstico de D-MYH9 se basó en la positividad de la inmunofluorescencia. Si bien la especificidad de esta técnica sería suficiente para realizar el diagnóstico, es conveniente la confirmación por biología molecular, ya que permite evaluar la relación genotipo-fenotipo dando una perspectiva del pronóstico de la enfermedad.

El síndrome de Bernard-Soulier (SBS) fue otra de las macrotrombocitopenias halladas en nuestra población. Una paciente presentó clínica hemorrágica grave desde el nacimiento, disminución muy marcada a ausencia de la expresión de GPIb/IX evaluada por citometría de flujo y ausencia de la aglutinación con ristocetina, mientras que la agregación plaquetaria con el resto de los agonistas fue normal. Mediante secuenciación de Sanger se confirmó la mutación homocigota p.Y294*, en el gen *GP1BA*, gen que codifica para la GPIb α , correspondiendo a la forma clásica de este desorden⁽¹⁰⁾.

En otra familia con macroplaquetas y disminución de GPIb/IX relativa a la expresión de GPIIIa y agregación con ristocetina preservada, se halló mutación heterocigota p.A172V en el gen *GP1BA*, conocida como variante de Bolzano, correspondiente a la forma monoalélica del SBS, desorden relativamente frecuente de herencia autosómica dominante con sangrado leve o casi nulo⁽¹⁰⁾.

Tres pacientes pertenecientes a 2 familias presentaron plaquetas grises en el frotis de sangre periférica y deficiencia de TSP-1 en los gránulos alfa de las plaquetas, sugiriendo síndrome de plaquetas grises (SPG), sospecha que se reforzó por el aumento de vitamina B12 sérica. Se destaca la utilidad de la evaluación del contenido de TSP-1 por inmunofluorescencia como marcador de gránulos plaquetarios alfa, dado que la microscopía electrónica no se encontró disponible. Luego se identificaron mutaciones en el gen *NBEAL2*, reportadas por primera vez⁽¹¹⁾. Dos pacientes progresaron a mielofibrosis con esplenomegalia.

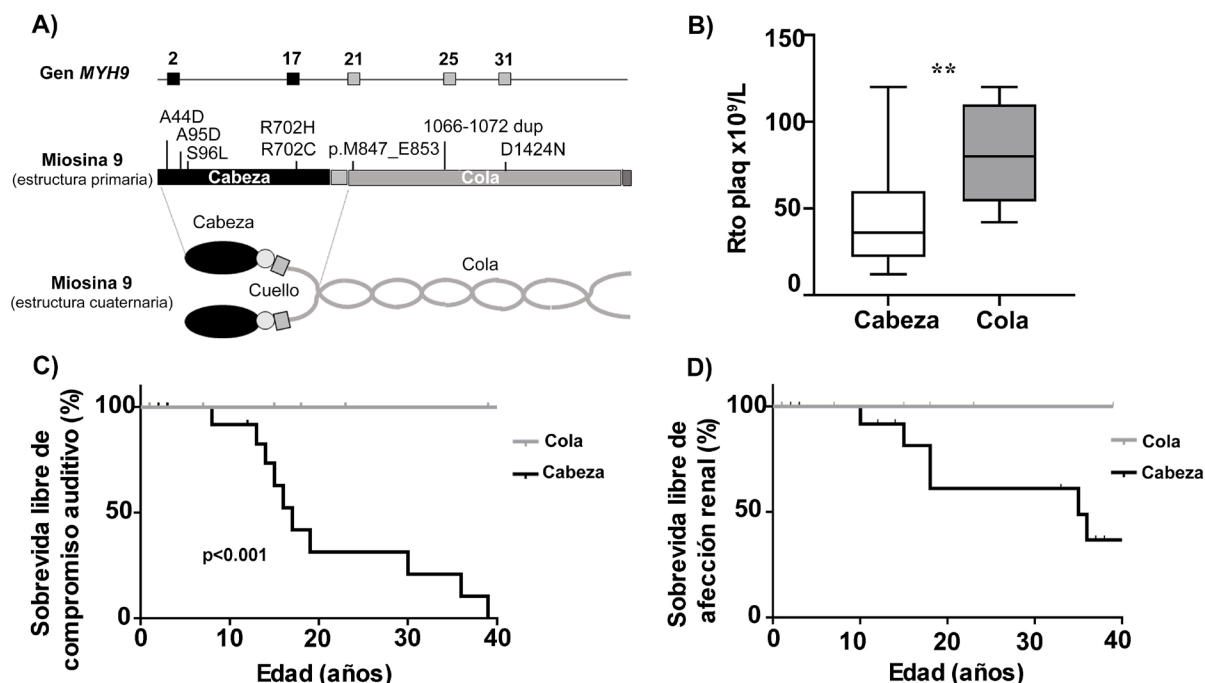


Figura 2. Pronóstico y evolución de pacientes con mutaciones localizadas en la cabeza motora o en la cola helicoidal de la miosina 9. **A)** Representación esquemática de la miosina 9. En el gen *MYH9* se detallan los exones donde se hallaron las mutaciones de la población estudiada y en la estructura primaria de la proteína los residuos aminoacídicos afectados. **B)** Recuentos plaquetarios según el tipo de mutación hallada (cabeza n=15, cola n=7 pacientes) $p<0,01$, test de Mann-Whitney. **C)** Curvas de supervivencia libre de enfermedad auditiva en función de la edad en pacientes con distintas mutaciones (cabeza n=15, cola n=7) del gen *MYH9*, $p<0,001$, test *Log-rank* (Mantel-Cox). **D)** Curvas de supervivencia libre de enfermedad renal, $p=ns$, test *Log-rank* (Mantel-Cox).

Plaquetas de tamaño normal

Tres familias con plaquetas de tamaño normal presentaron antecedente de síndrome mielodisplásico/leucemia. En una de las familias, la marcada alteración de la agregación plaquetaria y disminución de gránulos densos detectada utilizando mepacrina por citometría de flujo orientó al diagnóstico de desorden plaquetario familiar con predisposición a leucemia (DPF/LMA), confirmando luego por detección de una mutación del factor de transcripción *RUNXI*, siendo una de las primeras mutaciones descriptas fuera del dominio de unión al ADN de esta molécula⁽¹²⁾. Las familias restantes presentaron una alteración leve de la función plaquetaria, que se diagnosticó como trombocitopenia relacionada a *ANKRD26* (Tr-ANKRD26) luego del hallazgo de la mutación en el promotor del gen *ANKRD26*.

Microplaquetas

La familia con microplaquetas no presentaba ma-

nifestaciones sindrómicas (ni eczema ni inmunodeficiencia). Se diagnosticó trombocitopenia ligada al X tras el hallazgo de mutación del gen *WAS* (Wiskott-Aldrich). Uno de los pacientes evolucionó a linfoma⁽¹³⁾.

Estudio exómico

Luego del abordaje clásico se realizó análisis exómico (WES) por NGS en 8 familias sin diagnóstico etiológico, hallando mutaciones en 4 de ellas: 1 SBS clásico, 1 SBS monoalélico, 1 DPF/LMA y 1 Tr-ANKRD26. En las 4 familias restantes no se hallaron mutaciones patogénicas en genes conocidos ni en genes no asociados a TH. Las alteraciones moleculares detectadas en el exoma involucraron genes ya conocidos como causales de TH y que podrían haber sido identificadas por medio del algoritmo instituido. La ineficacia del tamizaje clásico en estos casos se atribuyó a diversas causas. En el caso de la mutación de *RUNXI*, se debió a la ausencia de

elementos distintivos que orientaran al diagnóstico, en particular, la ausencia del antecedente de leucemia sumado a la imposibilidad de evaluar la función plaquetaria por motivos técnicos en la única oportunidad en que se contó con muestra fresca. Cabe destacar que la función plaquetaria está alterada prácticamente en todos los pacientes con DPF/LMA. En otro caso, el motivo fue una limitación técnica de la secuenciación de Sanger, incluyendo un falso negativo en la secuenciación del gen *ANKRD26* en una

familia con sospecha clínica de este desorden, que luego se detectó por NGS.

Rédito diagnóstico global

Considerando ambos abordajes, el rédito diagnóstico fue 31/50 (62%) familias, con la siguiente distribución: 38% D-MYH9, 8% SBS (4% clásico, 4% monoalélico), 4% SPG, 4% DPF, 6% Tr-ANKRD26, 2% TLX (Tabla 1 y Figura 3).

En la tabla 2 se detallan las mutaciones halladas en las familias con diagnóstico molecular confirmado

Tabla 1. Abordaje clásico y rédito diagnóstico utilizando NGS

Abordaje	Clásico		Clásico +NGS	
	Familias (n)	%	Familias (n)	%
Familias estudiadas	50	100	50	100
D-MYH9	19	38	19	38
SBS clásico	1	2	2	4
SBS monoalélico	1	2	2	4
SPG	2	4	2	4
DPF/LMA	1	2	2	4
Tr-ANKRD26	2	4	3	6
TLX	1	2	1	2
Con diagnóstico	27	54	31	62
Sin diagnóstico	23	46	19	38

NGS: *next generation sequencing*, D-MYH9: desorden relacionado a MYH9, SBS: síndrome de Bernard Soulier, SPG: síndrome de plaquetas grises, DPF/LMA: desorden plaquetario familiar con predisposición a leucemia, Tr-ANKRD26: trombocitopenia asociada a ANKRD26, TLX: trombocitopenia ligada al X.

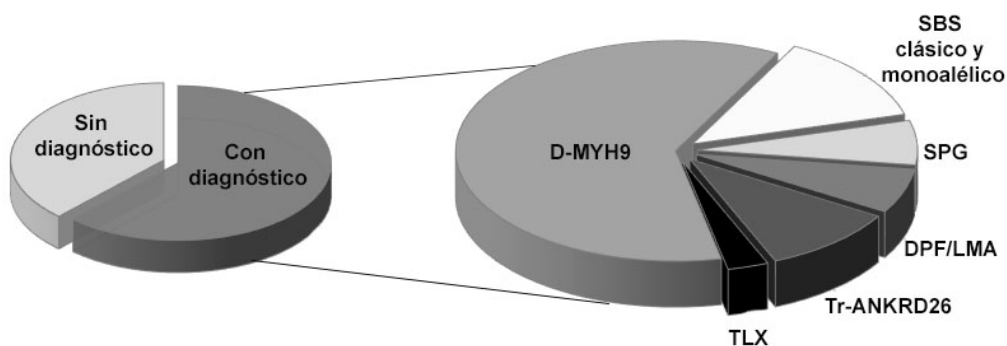


Figura 3. Distribución de la población estudiada luego del abordaje clásico y NGS.

n=50 familias (sin diagnóstico n=19, con diagnóstico=31).

D-MYH9: desorden relacionado a MYH9, SBS: síndrome de Bernard Soulier, SPG: síndrome de plaquetas grises, DPF/LMA: desorden plaquetario familiar con predisposición a leucemia, Tr-ANKRD26: trombocitopenia asociada a ANKRD26, TLX: trombocitopenia ligada al X.

Tabla 2. Mutaciones halladas en las familias estudiadas

Diagnóstico	Herencia	Gen	Mutación cDNA	Proteína
D-MYH9	AD	MYH9	c.2105G>A	p.R702H °
		MYH9	c.284C>A	p.A95N
		MYH9	c.4270G>A	p.D1424N
		MYH9	c.2539_2559dup	p.M847_E853
		MYH9	c.287C>T	p.S96L
		MYH9	c.2104C>T	p.R702C °
		MYH9	c.131C>A	p.A44D
		MYH9	c.3195_3215dup	p.1066_1072dup
SBS	AR	GP1BA	c.882C>G	p.Y294* §
		GP9	c.182A>G	p.N61S §
SBSm	AD	GP1BA	c.28_30del	p.L10del
		GP1BA	c.515C>T	p.A172V
SPG	AR	NBEAL2	c.2187C>A	p.Y729* §
		NBEAL2	c.3838C>T/c.6477C>G	p.R1280*/p.H2159Q
DPF/LMA	AD	RUNX1	c.735delC	p.T246Rfs*8
		RUNX1	c.351+1G>A	°°
Tr-ANKRD26	AD	ANKRD26	c.-125A>G	°°°
		ANKRD26	c.-118C>T	°°°
		ANKRD26	c.127A>G	°°°
TLX	lig. X	WAS	c.190G>C	p.Q52H

D-MYH9: desorden relacionado a MYH9, SBS: síndrome de Bernard Soulier, SPG: síndrome de plaquetas grises, DPF/LMA: desorden plaquetario familiar con predisposición a leucemia, Tr-ANKRD26: trombocitopenia asociada a ANKRD26, TLX: trombocitopenia ligada al X. AD: autosómico dominante, AR: autosómico recesivo. Lig.X: ligada a X. En negrita se remarcan las mutaciones que fueron descritas por primera vez. ° mutación hallada en más de una familia. °° mutación en el sitio de empalme. °°° mutación a nivel del promotor del gen. § mutación homocigota.

luego de implementar el abordaje clásico y NGS. Las familias sin diagnóstico etiológico (38%) presentan en su mayoría trombocitopenia aislada, leve, con moderado aumento del tamaño plaquetario y escaso sangrado (Figura 3).

Complicaciones

En el 38% de las familias (n=50) algún integrante presentó manifestaciones sindrómicas asociadas a la trombocitopenia: hipoacusia 22%, nefropatía 12%, mielodisplasia/leucemia 10%, linfoma 2% y mielofibrosis 4% del total de las familias. Diez pacientes fallecieron (9%), 8 por causas relacionadas a TH, incluyendo 4 por sangrado (Tabla 3).

Discusión

El avance continuo en el campo de los trastornos plaquetarios hereditarios contribuye a una mayor comprensión de estos desórdenes, posibilitando mejores enfoques para el diagnóstico y la atención del paciente. La importancia de un diagnóstico adecuado de estas entidades se enfoca por un lado en definir una conducta clínica, brindar un adecuado consejo genético y evitar tratamientos inadecuados y, por otro, permite entender y profundizar los mecanismos moleculares que las sostienen. La adopción de algoritmos establecidos puede optimizar las estrategias diagnósticas, focalizando el estudio molecular en los genes candidatos en base al fenotipo del paciente. En

Tabla 3. Complicaciones halladas en las familias estudiadas

Complicaciones	Familias (n=50)		Pacientes (n=114)	
	n	%	n	%
Hemorragias graves	11	22	14	12
Hemorragias fatales	4	8	4	3
Manifestaciones sindrómicas:	19	38	26	23
Hipoacusia	5	10	8	7
Hipoacusia+nefropatía	6	12	7	6
Mielodisplasia/Leucemia	5	10	7	6
Linfoma	1	2	1	1
Mielofibrosis	2	4	3	3

este sentido, la aplicación del algoritmo del grupo italiano condujo al diagnóstico en 22 (48%) de 46 pacientes no relacionados en un estudio en Italia⁽¹⁴⁾. En nuestra cohorte de pacientes, la caracterización fenotípica cuidadosa permitió en muchos casos elaborar una sospecha clínica, que luego se confirmó por el estudio molecular, logrando un rédito diagnóstico similar al obtenido por el grupo italiano. Sin embargo, la heterogeneidad y la presentación atípica de estos trastornos, sumado a la frecuente ausencia de características distintivas, dificultó el diagnóstico en una proporción sustancial de pacientes.

El advenimiento de nuevas metodologías de estudio genético ha dado lugar a proyectos internacionales como ThromboGenomics⁽¹⁵⁾, en el cual se creó una plataforma con un panel de 79 genes con rol conocido en trastornos hemorrágicos, trombóticos o plaquetarios, alcanzando una tasa global diagnóstica del 53%. El grupo español publicó su experiencia utilizando una plataforma similar incluyendo los exones, las regiones no traducidas y el flaqueo de secuencia asociados a trastornos plaquetarios hereditarios, incluyendo trombocitopenias y trombocitopatías, donde hallaron el diagnóstico en el 88% de los pacientes con alta sospecha de una entidad determinada, mientras que, en el grupo de pacientes sin sospecha el rédito fue menor, alcanzando 54%⁽¹⁶⁾. En base a estos estudios, se propone que el testeo genético basado en paneles se incorpore más tempranamente en el algoritmo diagnóstico. Por otro lado, las iniciativas basadas en la secuenciación exómica permiten evaluar, además de los genes conocidos, otros genes que por el momento no han sido relacionados a TH, abordaje que ha permitido el descubrimiento de nuevos genes causales, defi-

niendo nuevas entidades⁽⁵⁾.

En este trabajo se efectuó estudio exómico (WES) mediante NGS en pacientes que quedaron sin diagnóstico luego del algoritmo clásico. Aunque no se hallaron mutaciones patogénicas en genes nuevos, se detectaron mutaciones en genes ya conocidos como causales de TH. Este hallazgo fue inesperado, dado que las entidades que fueron diagnosticadas por NGS se encuentran comprendidas en el algoritmo clásico y podrían haber sido diagnosticadas mediante este enfoque. Esto ilustra que, si bien el rendimiento del algoritmo clásico fue similar al de la literatura, demostró ciertas falencias, que pueden ser atribuibles a la presentación fenotípica poco distintiva o limitaciones técnicas, incluida la necesidad de realizar estudios con muestras frescas, entre otros motivos. La aplicación del NGS permitió entonces aumentar el rédito diagnóstico en casos en que el tamizaje clásico no fue informativo, aunque sería necesario ampliar la población estudiada para establecer el valor real de este abordaje en nuestro medio. Si bien es indudable que la tecnología NGS representa un avance en el campo de las TH, el hecho que la mitad de las familias estudiadas en nuestra cohorte mediante NGS permanece sin diagnóstico, aun luego del estudio exómico, pone de manifiesto las limitaciones actuales existentes en esta área. En particular, en estos casos no se hallaron mutaciones en el panel de genes que se conoce que causan TH y tampoco se hallaron mutaciones en la totalidad del exoma. Esto puede deberse a limitaciones técnicas del NGS, a dificultades inherentes al análisis bioinformático o a la dificultad de establecer una relación entre el posible hallazgo de alteraciones en genes nuevos y el fenotipo. Sólo la aplicación conjun-

ta de las tecnologías genéticas y la caracterización de las alteraciones fenotípicas permitirá identificar correctamente nuevos genes causales, indicando que ambos abordajes no son excluyentes, sino complementarios.

La entidad causal más frecuente en nuestra población de pacientes fue el D-MYH9, en concordancia con lo reportado en la literatura⁽²⁾. Ésta fue la entidad que presentó menor grado de dificultad diagnóstica, posiblemente debido a que se cuenta con una metodología de tamizaje precisa y específica, como la inmunofluorescencia para la miosina 9, la cual es de por sí diagnóstica de este desorden, si bien el rédito diagnóstico de esta técnica en pacientes con macrotrombocitopenia hereditaria sin sospecha clínica de D-MYH9 es bajo. La observación del frotis en búsqueda de los cuerpos de Döhle y de macroplaquetas y la pesquisa de compromiso extrahematológico permitieron en la mayoría de los casos elaborar un diagnóstico presuntivo de D-MYH9, que fue confirmado por inmunofluorescencia o biología molecular. En base a la correlación hallada entre genotipo y fenotipo, el estudio molecular de este desorden tiene importancia en el pronóstico y seguimiento, como está descrito en la literatura y corroboramos en esta serie. Las entidades que siguieron en frecuencia al D-MYH9, fueron el SBS y Tr-ANKRD26, como se

describe en otras cohortes.

El diagnóstico etiológico preciso posibilitó la pesquisa adecuada de las complicaciones sindrómicas, que en muchos casos constituyen un problema más grave que las manifestaciones hemorrágicas en sí. Entre ellas, la asociación con leucemia, frecuente en nuestra serie (6%), tiene implicancias éticas en el tamizaje diagnóstico de las TH y terapéuticas, en relación con el posible uso de TPO-miméticos, cuya seguridad en este contexto no ha sido evaluada.

Conclusiones

En base a la experiencia aquí presentada, un abordaje posible en países de bajos recursos sería limitar el uso de la NGS, ya sea en forma de paneles o estudio exómico, a aquellos pacientes que permanecen sin diagnóstico etiológico luego del algoritmo clásico, permitiendo de esta manera mejorar el rédito diagnóstico, optimizando, al mismo tiempo, los recursos disponibles. Considerando que es posible que en un futuro próximo dispongamos de paneles NGS dirigidos a los genes causales de TH en distintas instituciones de nuestro medio, la colaboración continua entre los centros sería fundamental para lograr casuísticas nacionales representativas de estas enfermedades poco frecuentes.

Conflictos de interés: La Dra Altuna D. declara haber recibido honorarios por parte de Novonordisk por concepto de conferencias y actividades educativas en las que ha participado. La Dra Arrieta ME declara haber recibido honorarios por parte de Novonordisk, Roche y Bayer por concepto de conferencias, actividades educativas y consultorías / asesorías en las que ha participado. El resto de los autores declara no poseer conflictos de interés.

References

1. Almazni I, Stapley R, Morgan N. Inherited Thrombocytopenia: update on genes and genetic variants which may be associated with bleeding. *Front Cardiovasc Med.* 2019;6:80.
2. Noris P, Pecci A. Hereditary thrombocytopenias: a growing list of disorders. *Hematology. Am Soc Hematol Educ Program.* 2017.
3. Lentaigne C, Freson K, Laffan MA y col. Inherited platelet disorders: toward DNA-based diagnosis. *Blood.* 2016;127:2814-23.
4. Balduini CL, Cattaneo M, Fabris F y col. Inherited thrombocytopenias: a proposed diagnostic algorithm from the Italian Gruppo di Studio delle Piastrine. *Haematologica.* 2003;88:582-92.
5. Mumford AD, Westbury SK. Genetic techniques used in the diagnosis of inherited platelet disorders. *Semin Thromb Hemost.* 2019;45(7) 685-694.
6. Zaninetti C, Gresele P, Bertomoro A y col. Eltrombopag for the treatment of inherited thrombocytopenias: A phase II clinical trial. *Haematologica.* 2020;105:820-828.
7. Glembotsky AC, Marta RF, Pecci A y col. International collaboration as a tool for diagnosis of patients with inherited thrombocytopenia in the setting of a developing country. *J Thromb Haemost.* 2012;10(8):1653-61.
8. Glembotsky AC, Bluteau D, Espasandin YR y col. Mechanisms underlying platelet function defect in a pedigree with FPD/AML: potential role for candidate RUNX1-targets. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 2014;12(5):761-72.
9. Pecci A, Klersy C, Gresele P y col. MYH9-related Disease: A novel prognostic model to predict the clinical evolution of the disease based on genotype-phenotype correlations. *Hum Mutat.* 2014;35(2):236-47.
10. Savoia A, Kunishima S, De Rocco D y col. Spectrum of the mutations in Bernard-Soulier syndrome. *Hum Mutat.* 2014;35(9):1033-45.
11. Bottega R, Nicchia E, Alfano C y col. Gray platelet syndrome: Novel mutations of the NBEAL2 gene. *Am J Hematol.* 2017;92(2):E20-E22.
12. Heller PG, Glembotsky AC, Gandhi MJ y col. Low Mpl receptor expression in a pedigree with familial platelet disorder with predisposition to acute myelogenous leukemia and a novel AML1 mutation. *Blood* 2005 15;105(12):4664-70.
13. Odstreil-Bobillo MS, Kohan D, Heller PG y col. Ileitis as presentation of lymphoma in Wiskott-Aldrich Syndrome. *Medicina (B Aires).* 2020;80(1):81-83.
14. Noris P, Pecci A, Di Bari F y col. Application of a diagnostic algorithm for inherited thrombocytopenias to 46 consecutive patients. *Haematologica.* 2004;89(10):1219-25.
15. Simeoni I, Stephens JC, Hu F y col. A high-throughput sequencing test for diagnosing inherited bleeding, thrombotic, and platelet disorders. *Blood.* 2016;127(23):2791-803.
16. Bastida JM, Lozano ML, Benito R y col. Introducing high-throughput sequencing into mainstream genetic diagnosis practice in inherited platelet disorders. *Haematologica.* 2018;103(1):148-62.



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.

Neoplasias mieloproliferativas crónicas BCR-ABL negativas, manifestación clínica y evolución. Experiencia en el Hospital Italiano de Buenos Aires

Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms, clinical manifestation and outcome. Experience at Hospital Italiano de Buenos Aires.

Aguilar Vera R., Bendek G., Barzallo M., Schutz N., Brulc E., Perusini M,
Kohan D., Valeo M., Nucifora E.

Hospital Italiano de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

aguilarvanesa13@gmail.com

Fecha recepción: 13/8/2020

Fecha aprobación: 21/8/2020

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° 2: 20-28
Enero - Abril 2020

Palabras claves: mutación,

neoplasias mieloproliferativas crónicas,
trombosis,
transformación,
recategorización.

Keywords: mutation,

myeloproliferative neoplasms,
thrombosis,
transformation,
recategorization.

Resumen

Las neoplasias mieloproliferativas BCR-ABL negativas son un grupo heterogéneo de trastornos hematopoyéticos clonales caracterizados por la sobreproducción de células hematopoyéticas diferenciadas. Incluye policitemia vera (PV), trombocitemia esencial (TE), mielofibrosis primaria (MFP) y mielofibrosis primaria prefibrótica (MFPpre).

La clasificación de la OMS 2001-2008 fue revisada en el año 2016 agregando hallazgos moleculares específicos con un impacto en el diagnóstico y el tratamiento. Integra criterios clínicos, moleculares y patológicos y mantiene un papel central para el examen morfológico fino de la médula ósea.

Con la finalidad de comprender mejor esta entidad y de contar con datos poblacionales propios, se realizó un estudio de cohorte retrospectiva en el Hospital

Italiano de Buenos Aires que incluye 264 pacientes con diagnóstico de neoplasia mieloproliferativa crónica Phi negativa entre enero 2004 y diciembre 2017 y se realizó la revisión anatomopatológica de 64 pacientes con diagnóstico de trombocitemia esencial previo al 2016 (utilizando los criterios de la nueva clasificación de la OMS).

El análisis demostró que las características de nuestra población son similares a las reportadas en la bibliografía, con tasas de supervivencia global y de transformación similares en la población global. En cuanto a la revisión de la patología de la médula ósea, el diagnóstico de TE fue confirmado en el 56% de los pacientes. En los pacientes que recategorizaron a mielofibrosis primaria en estadio prefibrótico (44%) se encontró un porcentaje mayor de fibrosis medular y de esplenomegalia al diagnóstico.

Abstract

BCR-ABL negative myeloproliferative neoplasms (MPNs) are a heterogeneous group of clonal hematopoietic disorders characterized by the overproduction of differentiated hematopoietic cells, including polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET), primary myelofibrosis (PMF) and prefibrotic primary myelofibrosis (prePMF).

The WHO classification was revised in 2016 adding specific molecular findings with an impact on diagnosis and treatment. This integrates clinical, molecular and pathological criteria and provides a central role to morphological examination of the bone marrow (BM). It also discriminates between essential thrombocythemia (ET) and the prefibrotic phase of primary myelofibrosis (pre PMF).

In order to better understand this entity and to have its own population data, a retrospective cohort study was carried out at the Hospital Italiano de Buenos Aires, which included 264 patients with a diagnosis of Philadelphia-negative chronic myeloproliferative neoplasms between January 2004 and December 2017 and a pathological review of 64 patients with a diagnosis of essential thrombocythemia prior to 2016 (using the criteria of the new WHO classification).

The analysis showed that the characteristics of our population are similar to those reported in the literature, with rates of global survival and transformation similar to the global population. Regarding the review of bone marrow pathology, the diagnosis of ET was confirmed in 56% of the patients. In patients who were reclassified to PMF prefibrotic stage (44%), a higher percentage of medullary fibrosis and splenomegaly was found at diagnosis.

Introducción

Las neoplasias mieloproliferativas (NMP) son un grupo heterogéneo de trastornos hematopoyéticos clonales caracterizados, en su fase crónica, por la sobreproducción de células hematopoyéticas diferenciadas⁽¹⁾.

La clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce a las neoplasias mieloproliferativas (NMP) como una de varias malignidades mieloides.

Las "NMP BCR-ABL negativas" son una subcategoría de NMP que incluye policitemia vera (PV), trombocitemia esencial (TE), mielofibrosis primaria (PMF) y recientemente se distingue mielofibrosis

primaria prefibrótica (MFPre)⁽¹⁾.

Clínicamente comparten las características de hiper celularidad de la médula ósea, el aumento de la incidencia de trombosis o hemorragia y una mayor tasa de transformación a leucemia mieloide aguda⁽²⁾. La clasificación de la OMS 2001-2008 fue revisada en el año 2016 agregando hallazgos moleculares específicos, conocimientos más profundos para la comprensión de la patobiología de las NMP, con un impacto en el diagnóstico y el tratamiento⁽³⁾. Integra criterios clínicos, moleculares y patológicos, pero el examen morfológico fino de la médula ósea aún mantiene un papel central⁽⁴⁾.

Los eventos moleculares que caracterizan a las neoplasias mieloproliferativas son la mutación V617F en el gen *JAK2*, la mutación en el exón 10 del gen *MPL* (mayormente en el codón W515), la mutación en el exón 12 del gen *JAK2* y la mutación del exón 9 del gen calreticulina (*CALR*)⁽⁵⁾. Son mutaciones mutuamente excluyentes y se las denomina "conductores fenotípicos" (del inglés: "*phenotypic drivers*") por su participación en el fenotipo mieloproliferativo⁽⁶⁾.

La mutación en *JAK2*, que también es la más frecuente, involucra a Janus kinasa 2 localizada en el cromosoma 9p24. En los pacientes con PV se detecta en el 97% como mutaciones activadoras somáticas en el exón 14 (*JAK2* V617F)⁽²⁾.

JAK2 V617F también ocurre en TE y MFP, incluido MFPre, con frecuencias mutacionales respectivas de 55% y 65%. Otras mutaciones en el gen *JAK2*, como son las del exón 12, parecen ser casi exclusivas de los casos de PV con negatividad para la V617F⁽⁸⁾. La mutación en el exón 12 de *JAK2* (entre F533 y F547), que se encuentran en los pacientes con PV con mutación *JAK2* V617F negativa y que se caracteriza por una mielopoyesis predominantemente eritroide, su frecuencia en pacientes con PV es del 1 a 2 %. En la práctica diaria, la ausencia de mutación *JAK2* hace poco probable el diagnóstico de PV.

La segunda mutación más frecuente en NMP involucra al gen *CALR* localizado en el cromosoma 19p13.2⁽⁷⁾. Se detectaron más de 50 tipos de mutaciones en *CALR*, pero las más frecuentes son la deleción de 52-bp (mutación tipo 1) y la inserción de 5-bp (tipo 2), encontradas en el 80% de todos los pacientes con mutación en *CALR*⁽⁹⁾.

La mutación en *CALR* está ausente, salvo reportes aislados, en PV. Su frecuencia está estimada en 20 a

25% en pacientes con diagnóstico de TE y MFP⁽¹⁰⁾. También puede encontrarse en pacientes con diagnóstico de síndrome mielodisplásico/mieloproliferativo definida como anemia refractaria con sideroblastos en anillo asociada a trombocitosis marcada⁽¹¹⁾.

La mutación en *MPL* (oncogén mieloproliferativo del virus de la leucemia, localizada en el cromosoma 1p34) ocurre en aproximadamente el 4% de los pacientes TE y el 8% de los pacientes con MFP. Es una mutación somática ubicada en el exón 10 del gen *MPL* y compromete principalmente al codón W515⁽¹²⁾. Aproximadamente el 10 a 15% de los pacientes con TE o MFP no tienen ninguna de las tres mutaciones líderes y se los denomina “triple negativos”⁽⁷⁾.

Las mutaciones en *JAK2/CALR/MPL* nos brindan importante información pronóstica en las NMP. Una alta carga alélica (mayor al 50%) de *JAK2* V617F en PV está asociada a mayor transformación fibrótica y a la presencia de prurito. En TE y MFP, la mutación *JAK2* V617F está asociada a mayor edad, niveles de hemoglobina más altos, leucocitosis y menor recuento de plaquetas y en TE a aumento del riesgo de trombosis con baja tasa de transformación a mielofibrosis. La supervivencia en pacientes con TE en los que se detecta la mutación *JAK2* V617F es significativamente más corta que la de la población de control ajustada por sexo y edad, con estimaciones promedio de 20 años⁽⁷⁾.

Los pacientes con TE que presentan mutación en *CALR* son más jóvenes con recuentos de plaquetas más elevados y riesgo trombótico bajo. En MFP la presencia mutación *CALR* tipo 1 está asociada a una sobrevida mayor⁽⁷⁾.

Además, se detectan mutaciones en genes implicados en la señalización, regulación epigenética y procesamiento del ARN, que no se realizan de rutina pero dan pronóstico. No son específicos de las NMP, ya que también pueden encontrarse mutados en cualquier malignidad mieloides^(2,13). Un tercio de los pacientes con diagnóstico de NMP tienen estas mutaciones somáticas adicionales e identifican a los pacientes con mayor riesgo de muerte o de transformación leucémica⁽¹⁾.

La clasificación de la OMS 2016 distingue MFPpre de MFP manifiesta (fase fibrótica).

La fase inicial prefibrótica, que debe diferenciarse de la TE, presenta en el examen de la anatomía patológica una médula ósea hipercelular asociada a una mínima fibrosis reticulínica con un hemograma con

discreta leucocitosis o trombocitosis⁽¹⁹⁾.

La fase avanzada de la enfermedad o fase fibrótica tiene una reducción de la celularidad hematopoyética junto a la presencia de fibrosis reticulínica o colágena, y a menudo osteosclerosis, en la biopsia de médula ósea.

Los criterios están basados principalmente en la morfología de la médula ósea⁽³⁾.

El objetivo principal de este trabajo fue describir las características clínicas y de laboratorio de los pacientes con diagnóstico de NMP en nuestra institución y evaluar su evolución, en cuanto a transformación y sobrevida global.

Consideramos importante evaluar un subgrupo de pacientes diagnosticados con TE, identificando la proporción de los mismos que termina siendo reclasificados a MFPpre con los criterios de revisión de la OMS 2016 a través, principalmente, de los hallazgos morfológicos en la biopsia de médula ósea, que incluyen la evaluación de la trama reticulínica, la cual tendría implicancias pronósticas. Describimos características clínicas y moleculares, la presentación hematológica de los dos grupos y las diferentes sobrevidas.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio observacional de cohorte retrospectivo en un hospital universitario de Buenos Aires que incluye a todos los pacientes mayores a 17 años con diagnóstico de neoplasia mieloproliferativa crónica Phi negativo según los criterios de la OMS de ese momento históricos diagnosticados y seguidos en nuestro centro desde enero 2004 a diciembre 2017.

Los pacientes potenciales fueron seleccionados del registro institucional NMP.

Los datos clínicos se recopilaron a partir de registros médicos electrónicos en forma estandarizada.

Los pacientes fueron seguidos desde la fecha de diagnóstico hasta su muerte o pérdida de seguimiento.

Los criterios de exclusión fueron la ausencia de una muestra de médula ósea disponible para revisión y la ausencia de datos en la historia clínica electrónica.

El análisis de la histopatología fue realizado localmente por patólogos capacitados que evaluaron qué muestras se recategorizarían como pre PMF de acuerdo con los criterios de clasificación de la OMS de 2016.

Las comparaciones categóricas se realizaron usando el test chi-cuadrado, el exacto de Fischer's y regresión logística. Se realizó análisis de supervivencia con Kaplan Meier y se compararon mediante el Log-rank test (Mantel-Cox). Se utilizó el programa IBM SPSS versión 20, Chicago, Illinois.

Resultados

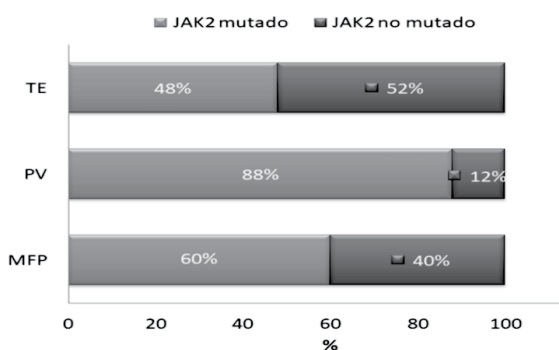
Se seleccionaron 360 pacientes con diagnóstico de NMP por biopsia de médula ósea, se incluyeron en el estudio 264 pacientes con diagnóstico de NMP BCR-ABL negativa. Las características basales se exponen en la tabla 1 de resultados.

Tabla 1. Características clínicas

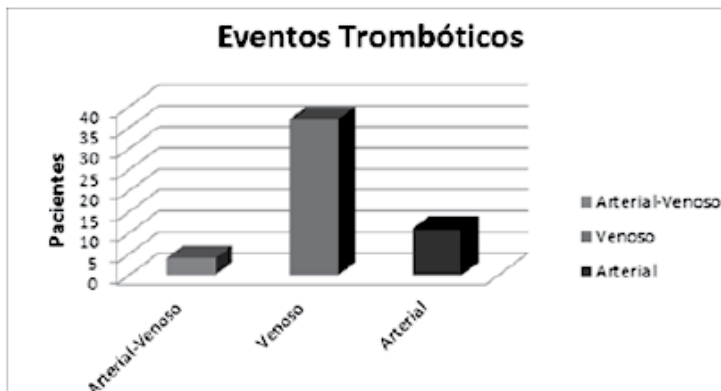
	Total NMP (264)	PV (67)	MF (84)	TE (113)
Mediana de edad en años (RIC)	69 (61-79)	68 (61-78)	71.5 (62-80)	68 (61-69)
Sexo, M/F (%)				
Masculino	123 (46.5%)	39 (58.2%)	48 (57.1%)	36 (31.9%)
Femenino	141 (53.4%)	28 (41.8%)	36 (42.9%)	77 (68.1%)
Mediana de Hb (RIC)	13.5 (12-16)	17(15-19)	11.5 (10-13)	14 (12-15)
Mediana de leucocitos mm3 (RIC)	10.230 (7.162-13.826)	11.050 (8.160-16.350)	11.929 (6.224-18.405)	9.370 (7.416-11.460)
Mediana de recuento plaquetario mm3 (RIC)	572.850 (260.550-778.625)	353.600 (217.800-586.000)	342.350 (158.150-619.800)	739.500 (611.800-927.300)
Mediana de LDH UI (RIC)	233 (180-365)	215 (174-294)	398 (241-730)	204 (167-266)
Esplenomegalia, n (%)	n=130 (49.2%)	n=42 (62%)	n=59(70,23%)	n=29 (25.7%)
Citogenético anormal (%)	27 (10.2%)	5 (7.4%)	13 (15.4%)	9 (7.9%)

Mutaciones somáticas.

ESTADO MUTACIONAL	NMP n= 194
JAK2	68% (n=132)
CALR1	22.22%(n=6)
CALR2	7.40%(n=2)
MPL	7.40%(n=2)
TRIPLE NEGATIVO	62.96%(n=17)



Eventos trombóticos.



El 53,4% de los pacientes fueron mujeres (n: 141), con una mediana de edad de 69 años (RIC 61-79), con un mínimo de 21 años y un máximo de 99 años. El 25,4% de los pacientes correspondieron a PV (n:67), un 42,8% TE (n: 113), el restante 31,8% a MFP (n: 84).

Se realizó estado mutacional en el 73,5% de los pacientes (194 casos), de los cuales en 132 se detectó la mutación JAK2 V617F (68%).

De los 62 pacientes con mutación JAK2 V617F negativa se solicitó el estudio de mutaciones en *CALR* y *MPL* en 27 pacientes, en 6 casos se encontró la mutación *CALR* tipo 1 (3 con diagnóstico de MFP y 3 casos con diagnóstico de TE), en 2 se detectó la mutación *CALR* tipo 2 (1 MFP y 1 TE). 2 pacientes presentaron mutaciones en *MPL* (1 MFP y 1 TE) y 17 pacientes fueron triple negativos.

En PV se detectó la mutación JAK2 V617F en 88% de los pacientes analizados, en TE y en MFP en el 60%.

En 52 pacientes presentaron eventos trombóticos (19,6%), 4 pacientes (1,5%) presentaron tanto evento arterial como venoso. De los 264 pacientes, 37 (13,9%) presentaron eventos venosos y 11 (4,1%) eventos arteriales. Los sitios de trombosis más frecuentes fueron para los eventos venosos en miembros inferiores seguido en un 34% por trombosis en sitios inusuales (7,2% trombosis suprahepática). De los eventos arteriales el accidente cerebrovascular y el infarto agudo de miocardio fueron los más frecuentes.

Se evaluó la relación entre el desarrollo de trombosis arterial y venosa con la presencia de mutación JAK2 y leucocitosis por test de chi cuadrado y con LDH y recuento de plaquetas por regresión logística, no encontrándose asociación entre las mismas.

De los 264 pacientes de nuestra población en estudio, se realizó el estudio citogenético por bandeo G en el 99%, de ellos el 83,7% (221 pacientes) presentaron cariotipo normal, en 6,2% (16 pacientes) no se obtuvieron metafases y 10,1% presentó cariotipo anormal, siendo las alteraciones más frecuentes

deleción 13q, 20q y la trisomía del 9, 7 pacientes presentaron cariotipo complejo.

De la totalidad de los pacientes, 14 (5,3%) pacientes se transformaron, 7 (2,6%) evolucionó a LMA, de ellos 2 pacientes tenían diagnóstico inicial de PV, 4 de MFP y 1 paciente de TE. De los 7 pacientes que evolucionaron a MF, 2 casos con diagnóstico previo de PV y 5 casos de TE. De estos pacientes se estudió en 4 el gen *TP53* resultando positivo en 2 casos.

Se realizó un análisis univariado para evaluar la relación independiente entre la edad, el valor de hemoglobina y el recuento de leucocitos con el riesgo de transformación de la enfermedad. No se obtuvieron resultados estadísticamente significativos, se expresan en la tabla 2 de resultados.

La mediana de transformación en la población total fue de 196 meses, para TE también fue de 196 meses. Al final del seguimiento se mantienen sin progresión el 94% de las PV y el 96,3% de las MFP, no alcanzando la mediana de sobrevida libre de progresión.

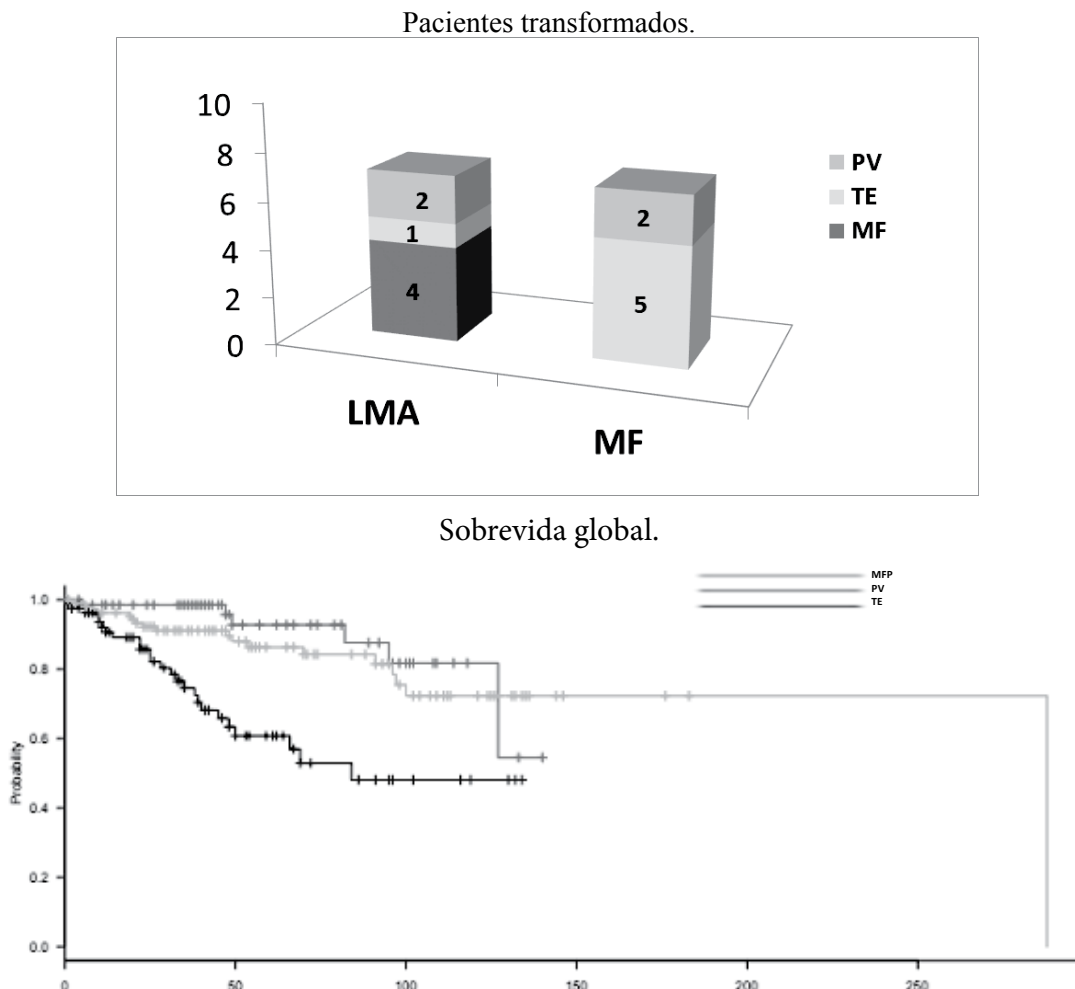
La mediana de seguimiento de toda la población desde el momento del diagnóstico fue de 53 meses (mínimo de 1 mes - máximo 288 meses), para PV fue de 47 meses (1 a 140), en TE de 48 meses (1-288) y en MFP de 31.5 meses (1-134). Del total de pacientes, 49 (18,6%) murieron en el transcurso del seguimiento por diferentes causas entre éstas, eventos cardiovasculares y causas infecciosas.

La mediana de sobrevida global para la cohorte completa fue de 288 meses. La mediana de sobrevida de los pacientes con MFP y TE fue de 84 y 288 meses, respectivamente. Al final del seguimiento los pacientes con PV están por arriba de la mediana (supervivencia acumulada 91%).

Se realizó una revisión de la anatomía patológica de 64 pacientes. El diagnóstico de TE fue confirmado en el 56% de los pacientes. Edad media: 67 años. El estado mutacional se realizó en 32 pacientes, 62% fueron *JAK2* mutados. Nueve pacientes fueron triple negativo. Hubo 8 eventos trombóticos. La mediana de seguimiento fue de 32 meses; ningún

Tabla 2 de resultados. Factores asociados a eventos trombóticos.

Variable	HR	IC (95%)	p
Edad (años)	0.99	(0.96 - 1.027)	0.68
Hb (g/dL)	1.05	(0.87 - 1.262)	0.602
Leucocitos (mm ³)	1.91	(0.63 - 5.840)	0.251



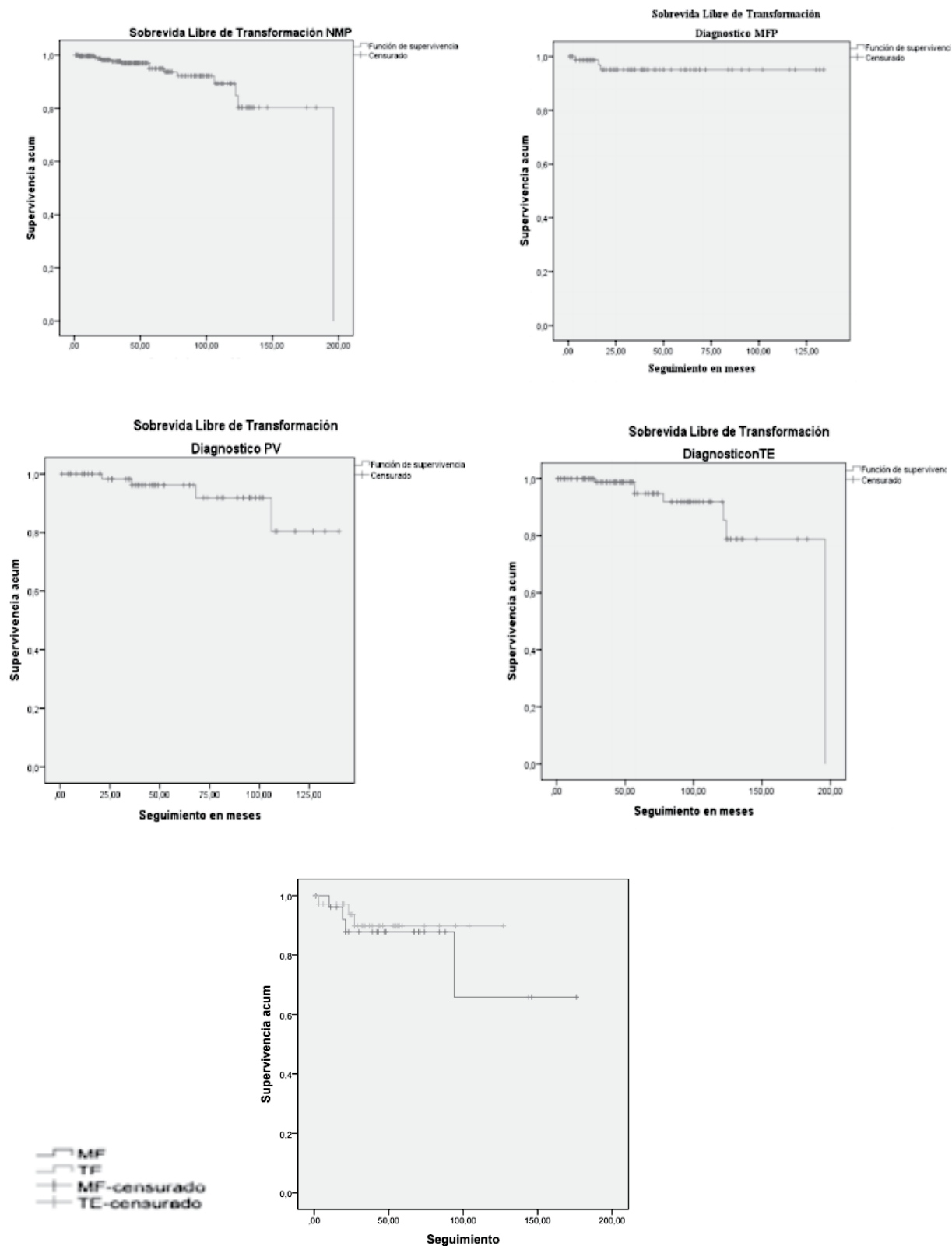
paciente fue transformado. Tres pacientes murieron. Veintiocho pacientes (44%) fueron reclasificados a estadio pre-fibrótico MFP, mediana de edad: 67 años (IC 95% 59-70). Se estudió el estado mutacional en 16 pacientes: once fueron *JAK2* positivos, dos mutaciones en *CALR*, un *MPL* mutado y tres pacientes triple negativo. Se detectaron ocho eventos trombóticos. Ni la presencia de la mutación en *JAK2*, la leucocitosis, el aumento de LDH o el valor de las plaquetas se asociaron con la presencia de un evento trombótico ($p=0.09$, $p=1$, $OR=1$, $OR=0.99$, respectivamente). Un paciente progresó a MF y 4 pacientes murieron. El grupo TE tuvo menos esplenomegalia y mayor recuento de plaquetas. El grupo MFP tuvo menor supervivencia. La mediana de supervivencia global no se alcanzó con una mediana de seguimiento de 40 meses. La supervivencia global a los 3 años fue del 87% de MFPpre frente a 89% TE ($p=0.51$).

Discusión

En este estudio se describe una cohorte de 264 pacientes, con diagnóstico de NMP BCR-ABL negativas, encontrando un predominio del sexo femenino, una mayor frecuencia de trombosis venosa, en contraste con lo citado en la bibliografía en la que se demuestra que el mayor porcentaje de la población era de sexo masculino con una mayor frecuencia de trombosis arterial, lo que es esperable, ya que en nuestra cohorte en estudio presentó mayor porcentaje de pacientes con diagnóstico de TE.

De nuestro análisis se estudió el estado mutacional en 194 casos. Observamos en PV su positividad en un 88% y 48%, 60% para TE y MFP respectivamente. En contraste con el estudio realizado por Jacob Grinfeld y colaboradores, donde evaluaron las determinantes moleculares de las NMP y demostró que la frecuencia mutacional *JAK2* V617F es específica y está presente en prácticamente todos los pacientes con PV, 50-60% en TE y 55-65% en MFP. Esta diferencia entre los estudios, puede deberse a

Sobrevida libre de transformación:



que en nuestra población no se estudió en forma sistemática la mutación del *JAK2* en el exón 12.

La frecuencia de cariotipo anormal fue similar a la publicada (10% vs 7 %).

Las tasas de transformación de PV y MFP fueron similares a las publicadas en la bibliografía, no así para las TE, que fue mayor para transformación a LMA y MFP. Como la transformación de los pacientes con TE es un evento raro, podemos suponer que estos pacientes tenían un diagnóstico al comienzo de MFPpre.

No se encontró relación estadística entre edad, leucocitosis, valor de LDH, de hemoglobina y recuento de plaquetas con las tasas de transformación.

En nuestra cohorte fueron recategorizados a MF-Ppre un 44% de los pacientes con TE estudiados, estos resultados son similares a los publicados en el estudio del comité Británico (Georg Jeryczynski y colaboradores) donde de 209 pacientes diagnosticados con TE, se obtuvo un 38.3% de pacientes rediagnosticados como MFPpre.

En nuestro estudio, con una mediana de seguimiento de la cohorte de 43 meses, no se ha alcanzado aún la mediana de supervivencia para la población. Estos da-

tos son coherentes con lo reportado en la literatura.

Podemos concluir que la caracterización de los pacientes de acuerdo a la presencia de las mutaciones somáticas, tanto las mutaciones líderes como las mutaciones somáticas adicionales, son importantes para la clasificación del riesgo de estas patologías, ya que tienen implicancias en el pronóstico y en la adecuación del tratamiento.

La distinción entre TE y MFPpre, especialmente en lo que concierne a presentación hematológica, eventos trombóticos, de sangrado y pronóstico, tiene mucha relevancia clínica.

Los pacientes con diagnóstico de TE confirmado por los criterios de la OMS pueden requerir sólo tratamiento preventivo para la presencia de trombosis. Sin embargo, en los casos de MF pre se requeriría un tratamiento más agresivo, para evitar la progresión a MFP manifiesta y/o a LMA.

En conclusión, un elemento primordial para el diagnóstico correcto según los criterios de la OMS exige un escrutinio minucioso de la biopsia de médula ósea, para poder tener un manejo terapéutico apropiado de los pacientes.

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

Bibliografía

1. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127: 2391-2405.
2. Grinfeld J, Nangalia J, Green AR. Molecular determinants of pathogenesis and clinical phenotype in myeloproliferative neoplasms. *Hematologica*. 2017;102: 7-17.
3. Guglielmelli P, Pacilli A, Rotunno G, Rumi E, Rosti V, Delaini F et al. Presentation and outcome of patients with 2016 WHO diagnosis of prefibrotic and overt primary myelofibrosis. *Blood*. 2017;129: 3227-3236.
4. Rupoli S, Goteri G, Picardi P, Micucci G, Canafoglia L, Scortechini AR et al. Thrombosis in essential thrombocythemia and early/prefibrotic primary myelofibrosis: the role of the WHO histological diagnosis. *Diagn Pathol*. 2015;10: 29.
5. Kim SY, Im K, Park SN, Kwon J, Kim J-A, Lee DS. CALR, JAK2 and MPL mutation profiles in patients with four different subtypes of myeloproliferative neoplasms: primary myelofibrosis, essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myeloproliferative neoplasm, unclassifiable. *Am J Clin Pathol*. 2015;143: 635-644.
6. Vainchenker W, Constantinescu SN, Plo I. Recent advances in understanding myelofibrosis and essential

- thrombocythemia. *F1000Res*. 2016;5: 10.12688/f1000research.8081.1.
7. Passamonti F, Elena C, Schnittger S, Skoda RC, Green AR, Girodon F et al. Molecular and clinical features of the myeloproliferative neoplasm associated with JAK2 exon 12 mutations. *Blood*. 2011;117: 2813-2816.
 8. Passamonti F, Rumi E, Pietra D, Elena C, Boveri E, Arcaini L et al. A prospective study of 338 patients with polycythemia vera: the impact of JAK2 (V617F) allele burden and leukocytosis on fibrotic or leukemic disease transformation and vascular complications. *Leukemia*. 2010;24: 1574-1579.
 9. Tefferi A, Lasho TL, Finke C, Belachew AA, Wassie EA, Ketterling RP et al. Type 1 vs type 2 calreticulin mutations in primary myelofibrosis: differences in phenotype and prognostic impact. *Leukemia*. 2014;28: 1568-1570.
 10. Tefferi A, Wassie EA, Guglielmelli P, Gangat N, Belachew AA, Lasho TL et al. Type 1 versus Type 2 calreticulin mutations in essential thrombocythemia: A collaborative study of 1027 patients. *Am J Hematol*. 2014;89: E121-E124.
 11. Cazzola M, Kralovics R. From Janus kinase 2 to calreticulin: the clinically relevant genomic landscape of myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2014;123: 3714-3719.
 12. Coleman WB, Tsongalis GJ. *Molecular Pathology: The Molecular Basis of Human Disease*. Academic Press; 2017.
 13. McKenney AS, Lau AN, Somasundara AVH, Spitzer B, Intlekofer AM, Ahn J et al. JAK2/IDH-mutant-driven myeloproliferative neoplasm is sensitive to combined targeted inhibition. *J Clin Invest*. 2018;128: 4743-4743.
 14. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, Teo S-S, Tiedt R, Passweg JR et al. A Gain-of-Function Mutation of JAK2 in Myeloproliferative Disorders. *N Engl J Med*. 2005;352: 1779-1790.
 15. Zhan H, Lin CHS, Segal Y, Kaushansky K. The JAK2 V617F-bearing vascular niche promotes clonal expansion in myeloproliferative neoplasms. *Leukemia*. 2017;32: 462- 469.
 16. Kubesova B, Pavlova S, Malcikova J, Kabathova J, Radova L, Tom N et al. Low-burden TP53 mutations in chronic phase of myeloproliferative neoplasms: association with age, hydroxyurea administration, disease type and JAK2 mutational status. *Leukemia*. 2018;32: 450-461.
 17. Tefferi A, Lasho TL, Tischer A, Wassie EA, Finke CM, Belachew AA et al. The prognostic advantage of calreticulin mutations in myelofibrosis might be confined to type 1 or type 1-like CALR variants. *Blood*. 2014;124: 2465-2466.
 18. Nangalia J, Green AR. Myeloproliferative neoplasms: from origins to outcomes. *Blood*. 2017;130: 2475-2483.
 19. Tefferi A. Primary myelofibrosis: 2017 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol*. 2016;91: 1262-1271.
 20. Maffioli M, Mora B, Passamonti F. Polycythemia vera: from new, modified diagnostic criteria to new therapeutic approaches. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2017;15: 700-707.
 21. Masked polycythemia Vera (mPV): Results of an international study. *Am J Hematol*. 2018;93: E133.
 22. Hatalova A, Schwarz J, Gotic M, Penka M, Hrubisko M, Kusec R et al. Recommendations for the diagnosis and treatment of patients with polycythemia vera. *Eur J Haematol*. 2018;10.1111/ejh.13156.



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.

Factores pronósticos en linfomas T: experiencia en una institución

Prognostic factors in T-cell lymphoma: a single- institution experience

Verdie J; Martínez E; Rojas F

Hospital de Clínicas "José de San Martín"

jimena_verdie@hotmail.com

Fecha recepción: 28/6/2020

Fecha aprobación: 14/7/2020

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° 2: 29-43

Mayo - Agosto 2020

Palabras claves: linfomas T,
factores pronósticos,
índices pronósticos.

Keywords: T-cell lymphomas,
prognostic factors,
prognostic score.

Resumen

Los linfomas de células T periféricas (LCTP) comprenden un grupo raro y heterogéneo de neoplasias que se originan a partir de células T post-tímicas (periféricas) o células *natural killer* (NK) y que se caracterizan por tener diferentes patrones morfológicos, fenotípicos y distintas formas de presentación clínica. Representan alrededor del 15 al 20% de los linfomas agresivos⁽¹⁾ y del 7 al 10% de todos los linfomas no Hodgkin (LNH)⁽²⁾, siendo su frecuencia algo mayor en Asia y América del Sur que en los países occidentales. Los posibles factores que contribuyen a estas diferencias geográficas son la exposición a agentes infecciosos virales como el virus de Epstein-Barr (VEB) y el virus linfotrópico humano de células T tipo 1 (HTLV-1) que se asocian a subtipos específicos de LCTP⁽³⁾.

Bajo la denominación de LCTP se engloban más de 20 subtipos, siendo el linfoma T NOS la entidad más frecuente con el 25.9%, seguido del linfoma angioinmunoblástico (LAIT) con el 18.5%, el linfoma T/NK nasal con el 10.4%, el linfoma anaplásico (LACG) ALK positivo 6.6% y el linfoma anaplásico

(LACG) ALK negativo con el 5.5%⁽⁴⁾.

La clasificación actual de la Organización Mundial de la Salud (OMS) divide a los LCTP en cuatro categorías según la presentación clínica predominante: leucémica (diseminada), ganglionar, extraganglionar y cutánea^(5,6). Sin embargo, se reconoce que en la práctica los LCTP pueden ser difíciles de subclasificar debido al poco conocimiento de anomalías genéticas específicas en comparación con los linfomas de células B^(7,8). Incluso, dentro de los subtipos establecidos, los LCTP pueden exhibir una marcada heterogeneidad clínica, histológica, inmunofenotípica, citogenética y molecular. La caracterización histopatológica es obligatoria tanto por razones pronósticas como terapéuticas⁽⁴⁾. Independientemente de su heterogeneidad, los LCTP se caracterizan, con pocas excepciones, por su comportamiento clínico agresivo, su afectación sistémica y una respuesta pobre al tratamiento.

Los LCTP suelen afectar a la población adulta con una edad media de entre 55 y 60 años y un ligero predominio en los hombres. La mayoría de los pacientes se presentan con enfermedad en estadio

avanzado (68%), síntomas constitucionales (45%), compromiso de médula ósea (25.8%) y enfermedad extranodal (37%)⁽¹⁾.

Los LCTP plantean desafíos diagnósticos (debido a la ausencia de marcadores clonales y la existencia de grupos heterogéneos) tanto como terapéuticos. Su baja incidencia asociada a la ausencia de índices pronósticos adecuados y ensayos clínicos diseñados específicamente para este tipo de linfoma hace que no exista un esquema estándar de tratamiento.

El tratamiento de LCTP se extrapola principalmente de estudios realizados en linfomas B agresivos, siendo el régimen más ampliamente utilizado el esquema CHOP (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona)⁽⁹⁾. La adición de etopósido a este esquema (CHOEP) demostró, en algunos estudios, mejorar la sobrevida libre de eventos en pacientes menores de 60 años, pero sin un claro impacto en la sobrevida global^(10,11). Sin embargo, en comparación con los linfomas agresivos de células B, el resultado en pacientes con LCTP es en general deficiente y es por este motivo que se han ensayado tratamientos más intensivos, incluido el trasplante autólogo de células madre (TAMO) en primera remisión completa. Este último no está exento de complicaciones y es por este motivo que es importante identificar aquellos pacientes con riesgo alto que puedan beneficiarse con el mismo.

Los enormes desafíos diagnósticos, los sistemas de clasificación cambiantes y los diferentes enfoques terapéuticos para tratar este tipo de linfomas contribuyen a la incertidumbre sobre los factores que determinan el pronóstico.

Se han desarrollado distintos estudios con el fin de identificar los factores pronósticos en pacientes con LCTP⁽¹²⁾. Aunque el Índice Pronóstico Internacional (IPI) fue desarrollado como un modelo predictivo en pacientes con linfoma no Hodgkin agresivo⁽¹³⁾, también tiene valor pronóstico en pacientes con LCTP. Es un índice fácil de aplicar, ya que toma en cuenta características clínicas de los pacientes, pero tiene como desventaja que tanto la presencia de sitios extranodales como la extensión de la enfermedad (estadio) son hechos frecuentes en los LCTP, por lo tanto, no tienen tanta significancia pronóstica⁽⁹⁾.

El índice pronóstico para los linfomas T (PIT) fue desarrollado a partir de un estudio retrospectivo colaborativo por parte del Intergrupo Italiano de Linfomas (IIL) y toma en cuenta la edad, el estado funcional

(ECOG), los niveles séricos de lactato deshidrogenasa (LDH) y el compromiso de la médula ósea, logrando identificar, de esta manera, cuatro subgrupos pronósticos⁽¹⁾. El PIT tiene como desventaja, por un lado, la poca utilidad en el LCGA (baja frecuencia de compromiso de médula ósea en este subgrupo) y la falta de capacidad para evidenciar diferencias pronósticas significativas entre LCGA ALK positivo (+) y ALK negativo (-)⁽¹⁰⁾ y, por otro lado, no utiliza ningún parámetro biológico tumoral. Por tal motivo fue modificado por el mismo grupo (PIT modificado o índice de Bologna) cambiando el compromiso de médula ósea por el índice de proliferación evaluado por la inmunotinción Ki-67⁽¹⁴⁾. El índice pronóstico más reciente fue presentado por el Proyecto Internacional de Linfoma de Células T periféricas en pacientes con LAIT, denominado PIAI, y toma en consideración la edad, el ECOG y el recuento de plaquetas, la presencia de síntomas B y el compromiso extranodal como principales variables⁽¹⁵⁾.

El objetivo del presente trabajo fue realizar un análisis retrospectivo de las principales características clínico-biológicas de los pacientes con LCTP evaluados en una única institución, aplicar los índices pronóstico mencionados anteriormente y comparar los resultados con los existentes en la bibliografía internacional.

Material y métodos

Se realizó un análisis retrospectivo de los pacientes con LCTP diagnosticados y tratados en la División de Hematología del Hospital de Clínicas “José de San Martín” durante el período comprendido entre octubre de 2010 y octubre de 2018. Se tomó como criterio de inclusión la edad mayor de 18 años y el diagnóstico de LCTP de novo. De un total de 40 pacientes se excluyeron los pacientes con diagnóstico de leucemia/linfoma de células T del adulto (2 pacientes), leucemia de células NK agresiva (1 paciente), linfomas T cutáneo (2 pacientes) y micosis fungoides (5 pacientes) debido a que la biología, los factores pronósticos y el tratamiento difieren de los LCTP. Por lo tanto, un total de 30 pacientes fueron los sujetos analizados en el presente estudio.

El diagnóstico de LCTP se estableció de acuerdo con la última clasificación de la OMS 2017 y fue realizado por un hematopatólogo experimentado de nuestra institución, tanto en el diagnóstico inicial como en los casos de revisión por ser la anatomía

patológica externa. La expresión de la proteína ALK se determinó por inmunohistoquímica en el subgrupo LCGA y de acuerdo con el resultado se le asignó como ALK+ o ALK-.

El índice de proliferación se evaluó mediante inmunotinción con la técnica de Ki 67 y se definió como punto de corte “mayor o igual a 80%”.

Los parámetros registrados de la historia clínica fueron la edad, el género, la distribución de los subtipos según la histología, la presencia de síntomas B, el compromiso extranodal y de la médula ósea, el estado funcional, el estadio y la respuesta al tratamiento. Se registraron datos de laboratorio incluidos el nivel de LDH, el recuento de plaquetas, el recuento absoluto de linfocitos y neutrófilos, la eritrosedimentación, la β 2-microglobulina y la albúmina.

Se definió como síntomas B a la presencia de alguno de los siguientes signos o síntomas: temperatura mayor a 38° C, sudoración nocturna y pérdida de peso del 10% o más en seis meses.

El estado funcional de los pacientes se evaluó de acuerdo con la escala denominada *Performance Status diseñada por el Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG). Se le asignó 0 a aquellos pacientes totalmente activos, sin restricciones ni síntomas; 1 a los pacientes con restricción en actividades físicamente extenuantes; 2 a aquellos pacientes ambulatorios, pero que no pueden realizar su actividad laboral; 3 a los que están confinados a reposo por más del 50% del día y 4 a los que están postrados en la cama y requieren asistencia para los cuidados de la vida diaria.

El estadio se determinó de acuerdo con la clasificación de Ann Arbor basándose en la historia clínica, el examen físico, la tomografía computada de tórax, abdomen y pelvis y la biopsia de médula ósea. Se asignó estadio I a aquellos pacientes que tenían afectación de una única región ganglionar; estadio II a aquellos pacientes con afectación de 2 o más regiones del mismo lado del diafragma; estadio III a aquellos con afectación ganglionar a ambos lados del diafragma y estadio IV a aquellos con compromiso extranodal.

Se definió como pacientes con compromiso extranodal a quienes tenían afección de médula ósea, tracto gastrointestinal, hígado, bazo, pulmón, hueso, sistema nervioso central y otros sitios diferentes a los ganglios linfáticos y se registró el número de sitios como 0, 1 o más de 1.

Se aplicaron los siguientes índices pronóstico a la población en estudio: IPI, PIT, PIT modificado y PIAI. El IPI se calculó de acuerdo con el Proyecto Internacional de Factores Pronósticos del LNH. Las variables utilizadas fueron la edad (≤ 60 vs. > 60), ECOG (≤ 1 vs. > 2), el nivel de LDH (valor normal vs. aumentado), el estadio (I - II vs. III - IV) y el compromiso extranodal (≤ 1 sitio vs. > 2). A cada variable se le asignó 1 punto. El IPI definió cuatro grupos: bajo (puntaje 0-1), intermedio-bajo (2 puntos), intermedio-alto (si tenía 3 variables) y alto riesgo (4 o 5 variables).

El PIT se calculó como detalla el Intergrupo Italiano de Linfomas teniendo en cuenta cuatro variables: la edad (≤ 60 vs. > 60), el estado funcional (ECOG ≤ 1 vs. > 2), el nivel de LDH (bajo vs. alto) y si presentó compromiso de médula ósea (negativo vs. positivo). Dependiendo de la cantidad de factores pronósticos adversos (0, 1, 2 o ≥ 3) los pacientes se clasificaron en grupos de bajo, intermedio-bajo, intermedio-alto o alto riesgo, respectivamente.

El PIT modificado se calculó con cuatro variables, tres de ellas ya incluidas en el PIT (edad, ECOG y LDH) y el Ki-67 ($< 80\%$ vs. $\geq 80\%$). Dependiendo de la cantidad de factores pronósticos adversos (0, 1, 2 o ≥ 3) los pacientes se clasificaron en grupos de riesgo bajo, intermedio-bajo, intermedio-alto o alto, respectivamente. En sólo 19 pacientes estaba disponible el valor de Ki-67, por lo que, a los restantes, se les asignó arbitrariamente un valor $< 80\%$.

Para el cálculo del PIAI se utilizaron las siguientes variables: la edad (≤ 60 vs. > 60), el estado funcional (ECOG ≤ 1 vs. > 2), el recuento de plaquetas ($< 150 \times 10^9/\text{mm}^3$ vs. $\geq 150 \times 10^9/\text{mm}^3$), la presencia de síntomas B y el compromiso extranodal (≤ 1 sitio vs. > 2). Los pacientes se clasificaron en grupos de bajo riesgo si presentaba un puntaje de 0-1 y de riesgo alto si tenía 2 o más factores pronósticos adversos. La supervivencia global (SG) se midió como el intervalo de tiempo entre el diagnóstico y la fecha de muerte o de la última evaluación.

Estadística

La supervivencia global y el período libre de enfermedad fueron estimados mediante el método de Kaplan-Meier. Para el análisis de la supervivencia y del período libre de enfermedad de los pacientes que estaban vivos y sin recaída de la enfermedad o que perdieron el seguimiento, el dato fue censurado al momento

de la última evaluación. En el caso de las variables continuas se aplicó el modelo de Regresión de Cox. Asimismo, este modelo fue utilizado para calcular los *Hazard Ratios* (HR) y su correspondiente intervalo de confianza del 95%. Las comparaciones entre los grupos fueron evaluadas con el test de log-rank.

Se evaluaron los siguientes índices de riesgo: IPI, PIT, PIT modificado y PIAI. Además, se analizaron las demás variables clínicas y patológicas relevantes registradas en relación con la sobrevida y con el período libre de enfermedad. En este caso, se utilizó el modelo de Regresión de Cox univariado buscando primero evaluar la relevancia independiente de cada variable. Luego se analizaron las variables significativas en un modelo multivariado. La significancia estadística se determinó por un p-valor <0.05. Los datos fueron analizados con el programa RStudio, Inc Versión 1.1.453.

Resultados

La mediana de edad de la población en estudio fue de 55 años (rango de 20-86 años) siendo el 53% de la población mayor de 60 años. Hubo una preponderancia del género masculino representando el 63.3% de la población (relación 1.7:1). En el momento del diagnóstico, sólo el 36.7% presentó síntomas B y el 56.7% de la población tuvo un ECOG>1. Las principales características de la población se muestran en la Tabla 1.

El grado de extensión de la enfermedad según la clasificación de Ann Arbor y el compromiso extranodal demostraron ser predictores de una enfermedad con un curso clínico más agresivo: 25 de 30 pacientes (83.3%) presentaron estadio III-IV y de ellos el 73.3% correspondió a estadio IV, mientras que dos tercios de la población (19 pacientes) tuvieron compromiso extranodal al diagnóstico. El sitio más frecuente fue la afectación de la médula ósea (9 pacientes de 30, 30%), seguido de la piel (5 pacientes de 30, 16.6%), gastrointestinal (3 pacientes de 30, 10%), pulmón (3 pacientes de 30, 10%) y, por último, el compromiso óseo, de hígado y bazo estuvo presente en 2 pacientes de 30 (6.66%).

En cuanto al estudio histopatológico, el LCGA ALK- fue el subtipo más frecuente representando el 33.3% de la población. La distribución de los restantes fue la siguiente: LCTP NOS (30%), LAIT (16.7%), linfoma T/NK tipo nasal (10%), LCGA ALK+ (6.7%) y linfoma T intestinal epiteliotrópico

monomórfico (LITME) (3,3%).

La distribución según el grupo de riesgo, luego de aplicar los diferentes índices, demostró que la mayoría de los pacientes se clasificaron como riesgo intermedio-alto y alto según cada uno de los índices previamente aplicados: IPI 73.3%, PIT 63.3%, PIT modificado 66.6% y PIAI 63.3%.

Se realizó un análisis de sobrevida global en relación con los 4 índices pronóstico-mencionados. Dado el bajo número de pacientes analizados, se analizó primero todas las categorías del índice: bajo riesgo, intermedio-bajo, intermedio-alto y alto riesgo. Luego se dividió a los pacientes en dos grupos: aquéllos de “bajo riesgo” formado por el grupo de bajo e intermedio-bajo riesgo y el grupo de “alto riesgo” que incluyó a los pacientes de intermedio-alto y los de alto riesgo. Se presentará el gráfico de Kaplan-Meier de esta última comparación dado que resulta, en términos estadísticos, más adecuado. La sobrevida global de los pacientes con LCTP según el IPI, PIT, PIT modificado y PIAI se muestran en los gráficos 1, 2, 3 y 4 respectivamente.

No hubo diferencias estadísticamente significativas en la sobrevida entre cada una de las categorías del IPI, PIT y PIT modificado. Tampoco se evidenciaron diferencias significativas cuando se analizó la sobrevida comparando las dos categorías agrupadas explicadas anteriormente.

Sin embargo, para el índice PIAI sí se observó una diferencia estadísticamente significativa en la mediana de sobrevida entre ambos grupos de riesgo ($p=0.041$). Para el grupo de bajo riesgo la mediana de sobrevida fue de 921 días (IC de 95% 794; no alcanzado) y para el grupo de alto riesgo fue de 208 días (IC de 95% 69; 554).

Se realizó un análisis univariado en relación con la sobrevida y las principales variables: la edad, la albúmina, el recuento de neutrófilos, el estadio, el subtipo histológico, la presencia de síntomas B, la β_2 -microglobulina y la eritrosedimentación.

La edad resultó estadísticamente significativa ($p=0.0466$) para la sobrevida. El HR para el aumento de 1 año en la edad fue 1.028, por lo que por cada año el riesgo de muerte aumenta 2.8%.

Con respecto a la albúmina, fue estadísticamente significativa ($p=0.0018$) para la sobrevida. El HR para el aumento de 1 g/dl en el valor de albúmina es 0.266, es decir, que el riesgo disminuye un 73.4% por cada g/dl de albúmina que aumenta.

Tabla 1. Características generales de la población en estudio

Variable	Valor (n=30)
Masculino, n (%)	19 (63,3)
Edad, años (rango)	55 (20-86)
Histología, n (%)	
LAIT	5 (16,7)
LCGA ALK-	10 (33,3)
LCGA ALK+	2 (6,7)
LITME	1 (3,3)
LCTP-NOS	9 (30)
L. NK/T nasal	3 (10)
Estadio, n (%)	
II	5 (16,7)
III	3 (10)
IV	22 (73,3)
ECOG, n (%)	
0	3 (10)
1	10 (33,3)
2	9 (30)
3	5 (16,7)
4	3 (10)
Síntomas B, n (%)	11 (36,7)
Hb g/dL, m (de)	10,75 (2,72)
Neutrófilos /uL, m (de)	5248 (2975)
Linfocitos /uL, m (de)	1498 (799)
Plaquetas /uL, Md (1Q; 3Q)	195000 (135800; 262200)
LDH UI/L, Md (1Q; 3Q)	505 (383; 651)
β2-microg, Md (1Q; 3Q) *	3 (2,55; 3,45)
Albúmina, m (de)	3,23 (0,65)
ERS, m (de)	51,83 (37,47)
Compromiso extranodal, n (%)	19 (63,3)
Compromiso MO, n (%)	9 (30)
Tratamiento, n (%)	
CHOP/CHOEP	24 (80)
Paliativo	3 (10)
SMILE	3 (10)
TAMO, n (%)	2 (6,7)

*m: media; de: desvío estándar; Md: mediana; 1Q: 1er cuartil; 3er cuartil; * Se tomaron sólo los casos con función renal con depuración >60 ml/min*

La $\beta 2$ -microglobulina resultó significativa ($p=0.031$, con un p -valor para el test global del modelo $p=0.05$) con un HR para el aumento en un punto de la $\beta 2$ -microglobulina de 1.275, interpretándose que por cada punto que aumenta la $\beta 2$ -microglobulina, el riesgo de muerte aumenta un 27.5%.

Cuando se realizó el análisis univariado de la eritrosedimentación, el recuento de neutrófilos y los síntomas B, ninguno resultó estadísticamente significativo.

Luego, las 4 variables significativas mencionadas anteriormente se analizaron en un modelo multivariado, sin encontrar significancia estadística al evaluarse de forma conjunta y analizando las interacciones. Sólo la albúmina mantuvo su significancia estadística.

Cuando se analizó la relación entre la sobrevida y el subtipo histológico, resultaron estadísticamente significativos el LCTP NOS ($p=0.00064$), el LCGA ALK- ($p=0.0128$) y el linfoma T/NK nasal ($p=$

0.017). Los pacientes con LCTP NOS tuvieron una sobrevida mayor en comparación con el resto de los subtipos. En el gráfico 5 se observa la relación entre la sobrevida y los diferentes subtipos histológicos. Con respecto al tratamiento, 27 pacientes (90%) recibieron terapia sistémica con intención curativa: de éstos, 24 pacientes (90%) fueron tratados con CHOP (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona) y con regímenes que contienen etopósido (CHOEP) en aquéllos menores de 60 años, y 3 pacientes (10%) recibieron otros regímenes basados en L-asparaginasa (SMILE) por tratarse de linfoma de células T/NK nasal. Recibieron tratamiento paliativo tres pacientes (10%) debido a su estado general y en el caso del único paciente con LITME, posterior al tratamiento con corticoides, evolucionó con hemorragia digestiva, perforación intestinal y posterior óbito por lo que no se pudo realizar un tratamiento más agresivo.

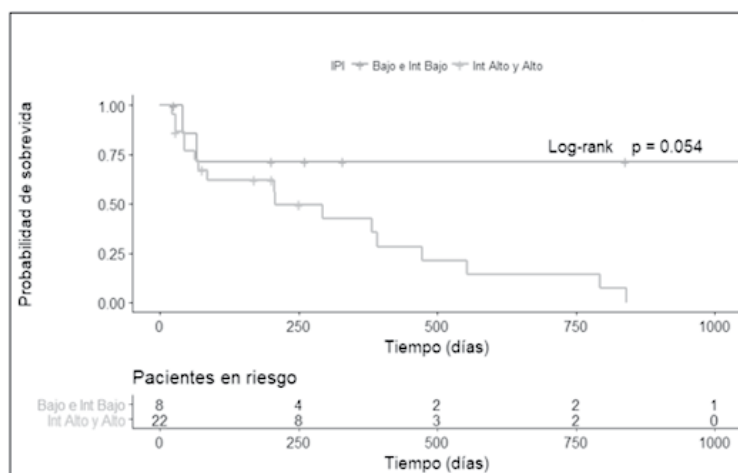


Gráfico 1. Sobrevida según el IPI agrupado en dos categorías de riesgo.

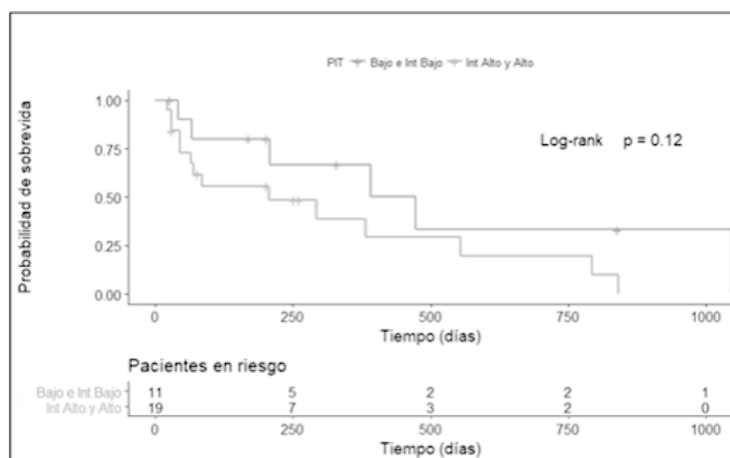


Gráfico 2. Sobrevida según el PIT agrupado en dos categorías de riesgo.

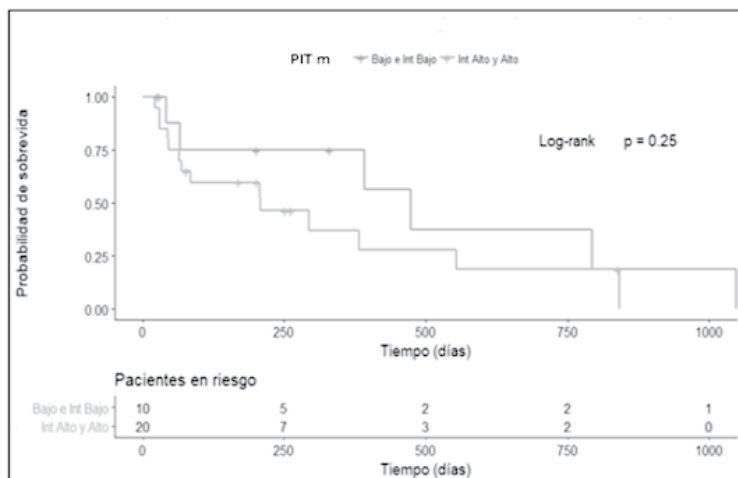


Gráfico 3. Sobrevida según el PIT modificado agrupado en dos categorías

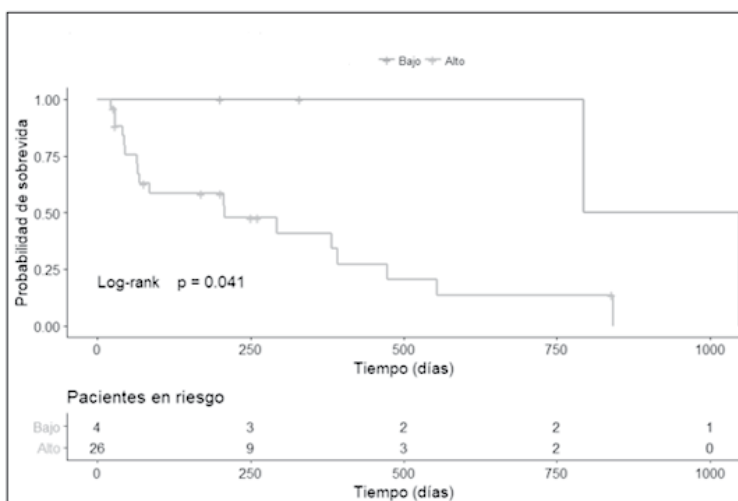


Gráfico 4. Sobrevida global según el PIAI.

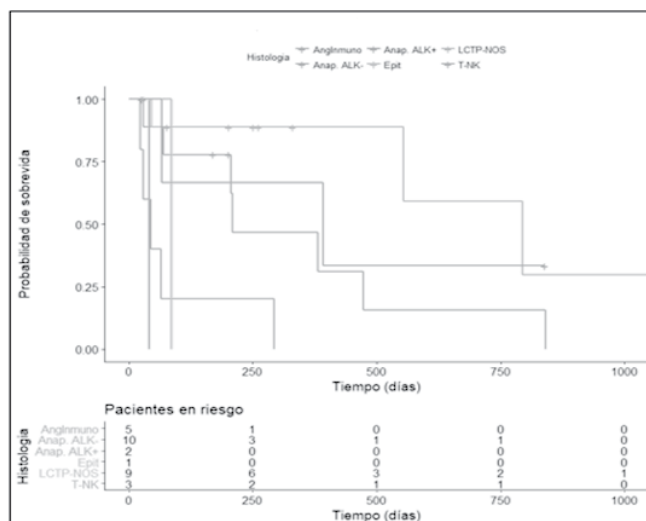


Gráfico 5. Sobrevida de acuerdo con el subtipo histológico.

Sólo el 6.6% de la población general (2 pacientes) recibió consolidación con TAMO. De ellos, 1 paciente presentó recidiva de la enfermedad a los 6 meses.

En el momento de este análisis el 66.6% de la población en estudio (20 pacientes) había muerto, con una mediana de sobrevida de 293 días.

Discusión

Los LCTP son un grupo heterogéneo de neoplasias que se caracterizan por tener un estadio avanzado, un comportamiento agresivo y una respuesta pobre al tratamiento. En la literatura publicada hasta la fecha, la sobrevida global a 5 años oscila entre el 25% y el 45%. Sin embargo, estos resultados difieren de acuerdo con los subtipos histológicos.

Existe poca información sobre el manejo apropiado de los LCTP debido a la diversidad de los subtipos histológicos y la rareza de esta enfermedad, lo que ha limitado la experiencia en cualquier institución.

El Proyecto Internacional de Linfoma de Células T Periféricas⁽⁴⁾ realizó un análisis retrospectivo de 1314 pacientes con LCTP y linfoma NK provenientes de 22 instituciones de todo el mundo con el objetivo de determinar las frecuencias relativas y la variación geográfica de los subtipos. El subtipo más comúnmente identificado fue el LCTP NOS con el 25.9%, siendo el segundo subtipo más frecuente el LAIT (18.5%). El linfoma T/NK representó el 10.4% y la leucemia / linfoma de células T adultas (LLTA) el 9.6% de los casos. Los siguientes subtipos más frecuentes fueron el LCGA ALK positivo (6.6%), el LCGA ALK negativo (5.5%) y por último el LCTP asociado a enteropatía (4.7%). Todos los otros subtipos específicos de LCTP representaron menos del 2% del total.

Los LCTP son más frecuentes en Asia y en América del Sur. Las diferencias en la distribución geográfica del LCTP se puede deber a la mayor prevalencia de infecciones virales, en particular el HTLV-1 en relación con la LLTA y el VEB relacionado con linfomas NK⁽³⁾.

El Proyecto Internacional de Linfoma de Células T Periféricas lanzó en 2006 el Proyecto de Células T, un estudio destinado a investigar las características clínicas y biológicas de los LCTP mediante la recopilación de datos. Bellei et al.⁽¹⁶⁾ describen en relación con los datos provenientes del Proyecto de Células T los perfiles en la distribución de los subti-

pos de LCTP en Europa y América del Sur (Argentina, Brasil, Chile y Uruguay). Cuando tomaron en cuenta la distribución general, la tasa de LCTP NOS en Sudamérica resultó similar a la de Europa con el 42%, pero los porcentajes de LCGA ALK- y de linfoma NK son más altos que en Europa (23% y 13%, respectivamente). Teniendo en cuenta la distribución por cada país, la tasa más alta de LCGA ALK- y ALK+ se registró en Brasil con el 39% y 12% de los casos respectivamente, mientras que en Argentina y Uruguay el porcentaje para este subtipo (11%) es inferior al valor promedio en América del Sur.

En relación con nuestro análisis, el subtipo histológico identificado con mayor frecuencia fue el LCGA ALK-, representando el 33.3% de la población en estudio, a diferencia de lo reportado en la mayoría de los trabajos, en donde el subtipo más frecuente es el LCTP NOS. La frecuencia de los restantes subtipos fue la siguiente: LCTP NOS (30%), LAIT (16.7%), linfoma extranodal T/NK nasal (10%), LCGA ALK+ (6.7%) y LITME (3.3%).

Es importante destacar que, si bien el LCTP NOS no correspondió al subtipo más frecuente, el porcentaje de prevalencia de éste y los demás subtipos (LAIT, linfoma extranodal NK/T nasal, LCGA ALK+ y LITME) se correlacionaron con los datos reportado por el Proyecto Internacional de Linfoma de Células T Periféricas⁽⁴⁾. La explicación de esta diferencia en cuanto a lo expuesto en la bibliografía internacional podría corresponder a un aumento en la frecuencia de LCGA ALK negativo y no a un menor porcentaje de pacientes con LCTP NOS.

El diagnóstico histológico de subtipos específicos de LCTP es impreciso. Diferentes estudios han identificado altas tasas de discrepancia diagnóstica entre patólogos (variabilidad inter-observador) y para el mismo patólogo (reproducibilidad) cuando se revisa el mismo caso en diferentes momentos⁽²⁾. Según el análisis publicado por el Proyecto Internacional de Linfoma de Células T Periféricas la precisión diagnóstica (acuerdo entre patólogos expertos) fue > 90% para los subtipos LCGA ALK+, LLTA y linfoma NK, debido principalmente a marcadores específicos: ALK, HTLV-1 y VEB respectivamente, siendo para el resto de los LCTP generalmente deficiente (<85%)⁽⁴⁾.

Volviendo a nuestro análisis, otra explicación posible del aumento de la frecuencia de LCGA ALK- podría deberse a la alta tasa de discordancia diag-

nóstica entre los patólogos con respecto a algunos subtipos de LCTP y la difícil diferenciación, en algunos casos, entre LCTP NOS y LCGA ALK-, como se ha reportado en diferentes estudios. Si bien las muestras fueron analizadas por un hematopatólogo experto, una de las limitaciones más importantes del presente estudio es la falta de revisión de dichas muestras por otro patólogo.

El fenotipo T es un factor de riesgo en sí mismo y esto se ve reflejado en diferentes estudios que confirman que los LCTP tienen un peor pronóstico en comparación con los linfomas de células B^(7,8).

Sin embargo, bajo la categoría LCTP existe un grupo heterogéneo, lo que demuestra una amplia variabilidad pronóstica. La clasificación histológica sigue siendo un indicador pronóstico básico. Los LCTP nodales y extranodales son clínicamente distintos, ya que los LCTP extranodales, especialmente las formas cutáneas, tienen un curso relativamente benigno. Además, entre los LCTP nodales la distinción entre el LCGA y otras entidades tiene impacto pronóstico. Dentro del LCGA es fundamental la diferenciación entre ALK- y ALK+ mediante técnicas de inmunohistoquímica, ya que éste último es morfológicamente indistinguible del LCGA ALK-. Esta distinción está basada en la presencia de la translocación 2;5 que determina la formación de un gen de fusión *nucleophosmin-anaplastic lymphoma kinase* (NPM1-ALK) o alguna de sus variantes. El ALK sirve como un marcador pronóstico, ya que los pacientes con LCGA ALK+ tienen mejor pronóstico no sólo en relación con los ALK- sino también con los otros subtipos de LCTP⁽¹⁷⁾.

A su vez, mediante técnicas de secuenciación se han identificado recientemente dos reordenamientos recurrentes en el LCGA ALK-: *DUSP22-IRF4* (6p25.3) y *TP63* (3q28). Pedersen et al.⁽¹⁸⁾ en concordancia con Parrilla Castellar et al.⁽¹⁹⁾ evidenciaron que aquellos LCGA ALK- con rearrreglos de *DUSP22* tuvieron un pronóstico excelente similar al de LCGA ALK+. Los reordenamientos de *TP63* fueron raros y se asociaron con un mal pronóstico y aquellos que carecían de reordenamientos denominados “triples negativos” tuvieron tasas de supervivencia intermedias, inferiores a las de *DUSP22* y superiores a las de *TP63*.

La heterogeneidad de los LCTP, la escasa comprensión de su patogenia y la ausencia de alteraciones genéticas conocidas impiden su correcta clasificación y el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas. De

hecho, que el subtipo histológico más frecuente sea el denominado LCTP NOS da cuenta de la cantidad de trabajo todavía necesario para poder comprender mejor la biología y patogénesis de la enfermedad. En los últimos años el estudio de perfil de expresión génica ha demostrado la existencia de subgrupos dentro del LCTP NOS, identificando dos subgrupos principales: GATA3 y TBX21. Además de su importancia al identificar la célula de origen de los LCTP, la expresión de estos factores de transcripción tiene implicancia pronóstica, ya que aquellos casos con expresión de GATA3 tienen peor pronóstico^(20,21).

Los pacientes con LCTP se caracterizan por presentar edad avanzada, a excepción de los LCGA ALK+ los cuales suelen ser más jóvenes. Según el análisis retrospectivo de pacientes con LCGA realizado por el grupo de Sibon et al.⁽²²⁾ en el momento del diagnóstico los pacientes con LCGA ALK+ eran significativamente más jóvenes que los pacientes ALK- (mediana de edad 31.5 y 56 años respectivamente). De forma similar en un análisis retrospectivo de 159 pacientes con LCGA, Savage et al.⁽²³⁾ se evidenció que los pacientes con LCGA ALK+ eran más jóvenes (edad media 34 años) en comparación con los ALK- (edad media 58 años) y que, si la comparación de los pacientes ALK- y ALK+ se limita a la edad (mayor de 40 años y menor), no hay diferencias en la supervivencia global y la supervivencia libre de progresión, sugiriendo que la edad es un factor importante involucrado en los diferentes resultados en ambos grupos.

La edad es, tanto para los LCTP como para la mayoría de otras patologías, un predictor de supervivencia global y de supervivencia libre de progresión, y, de hecho, es una de las variables de los principales índices pronóstico^(1,13-15).

Siguiendo nuestro análisis, la mediana de edad al diagnóstico fue de 55 años con un rango de 20 a 86 años, en concordancia con lo publicado en la bibliografía internacional^(4,24). Dado el bajo número de pacientes (2 pacientes) con LCGA ALK+, no se pudo establecer un análisis comparativo de la edad entre el LCGA ALK+ y el resto de los subtipos en nuestra población.

En nuestro análisis hubo una mayor proporción del género masculino, con una relación masculino/femenino de 1.7:1, al igual que lo reportado en la bibliografía⁽²⁴⁾. Con respecto al género como factor pronóstico, Ellin et al.⁽²⁴⁾ identificaron 755 pacientes con LCTP durante un periodo de 10 años a través

del Registro Sueco de Linfoma. En un análisis multivariable observaron que el género masculino tenía un impacto pronóstico y se asoció a una sobrevida global inferior. Estos resultados también fueron avalados por un ensayo clínico prospectivo aleatorizado del grupo de Mourad et al.⁽²⁵⁾ de 157 pacientes con LAIT en el cual tanto el género masculino como las adenopatías mediastinales y la anemia permanecieron como factores pronósticos independientes de la sobrevida global.

Siguiendo los resultados de nuestro análisis, el 83.3% de los pacientes presentó un estadio avanzado de la enfermedad (estadio III-IV), el 56.7% tenía un ECOG mayor a 1 y el 37% de los pacientes presentó síntomas B, al igual que lo reportado en otros estudios⁽¹⁾.

Con respecto a los datos de laboratorio, el 63.3% de los pacientes presentó un nivel de LDH aumentada con un valor promedio de 505 UI/l.

En los últimos años, se demostró que el nivel de albúmina sérica baja tiene un impacto pronóstico adverso en la SG de los pacientes con LCTP⁽²⁶⁾. En el análisis univariado realizado por Watanabe et al.⁽²⁷⁾ de 136 pacientes con LCTP tanto el nivel de proteínas totales como el nivel de albúmina tuvieron impacto pronóstico, permaneciendo significativo en el análisis multivariado sólo el nivel de proteínas totales. En relación con nuestro análisis, la albúmina, tanto en el análisis univariado como en el multivariado, demostró un impacto pronóstico en la sobrevida de los pacientes.

El nivel de β 2-microglobulina representa un factor pronóstico adverso en otras patologías, sin embargo, en los LCTP sólo toma poder como factor pronóstico de recaída luego del TAMO. Rodríguez et al.⁽²⁸⁾ analizaron 123 pacientes registrados en la base de datos GELTAMO y evidenciaron que la presencia de más de una variable del IPI ajustado a la edad (estadio III-IV, ECOG >1 y LDH elevada) y el nivel elevado de β 2-microglobulina previo al TAMO, eran factores pronósticos adversos para la sobrevida libre de progresión y permitieron estratificar a la población en diferentes grupos de riesgo. De los 88 pacientes, el 52% no presentó factores pronósticos al momento del trasplante y estos pacientes tenían un 60% de probabilidad de sobrevida a los 5 años luego del TAMO. Aquéllos que presentaron uno de los factores pronósticos tenían el 28% de probabilidad de sobrevida a los 5 años y ninguno de los

pacientes que tuvieron ambos factores al momento del trasplante estaba vivo luego de 5 años. Así, el Grupo Español de Linfomas ha propuesto un índice pronóstico basado en el IPI ajustado a la edad y el nivel de β 2-microglobulina que permite predecir el beneficio del TAMO en pacientes con LCTP.

En nuestro estudio, el 80% de la población en estudio tuvo un nivel de β 2-microglobulina elevada en suero, tomando en consideración a todos aquéllos que tenían una depuración de creatinina mayor a 60 ml/min. En el análisis univariado el nivel de β 2-microglobulina tuvo impacto pronóstico en la sobrevida, sin poder demostrarlo en el análisis multivariado.

La extensión de la enfermedad de los LCTP se realiza de acuerdo con el sistema de estadificación de Ann Arbor, que se diseñó inicialmente para el linfoma de Hodgkin (LH). Dicha clasificación se basa en la distribución del compromiso ganglionar, ya que el LH comúnmente se disemina a través de grupos contiguos de ganglios linfáticos. Los patrones de diseminación de los LCTP son diferentes, siendo menos precisa la aplicación de este sistema de estadificación en comparación con el LH. Sin embargo, la separación en dos categorías (I-II frente III-IV) proporciona una de las variables de mayor impacto en el IPI⁽¹²⁾. En nuestro análisis, al igual que lo mencionado por la bibliografía, la extensión de la enfermedad demostró un curso clínico agresivo: 25 de 30 pacientes (83.3%) presentaron estadio III-IV y de ellos el 73.3% correspondió a un estadio IV.

Los factores pronósticos para la respuesta y la sobrevida en LCTP se han descrito en numerosos estudios. Con respecto a los índices pronóstico, el IPI⁽¹³⁾ se validó en 1993 con la intención de identificar a los pacientes con LNH agresivo con mayor riesgo de recaída y muerte. Se basó principalmente en el LNH B, pero su capacidad para estratificar pacientes con LCTP se informó en años posteriores⁽¹²⁾. Toma en cuenta características clínicas que reflejan el crecimiento y el potencial invasivo del tumor (estadio, LDH y compromiso extranodal), el estado funcional y la edad. Varios estudios retrospectivos han demostrado que el IPI es fácil de aplicar en la práctica clínica, es una herramienta útil para el pronóstico y es eficaz en la identificación de diferentes grupos de riesgo en LCTP. Así Sonnen et al.⁽²⁹⁾, en un análisis retrospectivo de 125 pacientes con LCTP, evaluaron si el IPI podía predecir la so-

brevidad de los pacientes con LCTP. Con respecto al IPI, la SG a 5 años fue de 74%, 49%, 21% y 6% para los riesgos bajo, intermedio-bajo, intermedio-alto y alto, respectivamente. La puntuación del IPI explicó en gran medida las diferencias en la sobrevida entre los subtipos histológicos de los LCTP. Weisenburger et al.⁽³⁰⁾ aplicaron el IPI en 340 pacientes con LCTP NOS y encontraron que seguía siendo el predictor más útil de sobrevida. Sin embargo, el valor real del IPI se ha cuestionado en otras series de LCTP⁽¹⁵⁾. Por este motivo, varios autores han propuesto diferentes índices pronósticos incluidos el PIAI, el PIT y el PIT modificado para ser utilizados específicamente en pacientes con LCTP o incluso en subtipos histológicos específicos.

En 2004 Gallamini et al.⁽¹⁾ propusieron un nuevo modelo pronóstico basado en un análisis retrospectivo y multicéntrico de 385 pacientes con LCTP NOS. Este nuevo modelo, llamado PIT, incluyó la afectación de la médula ósea, la edad, el estado funcional y LDH. Cuando estas cuatro variables se combinaron en cuatro grupos el PIT pudo identificar subgrupos de pacientes con diferentes resultados. Cuando se aplicó el IPI a la población en estudio pudo identificar grupos de pacientes con diferentes pronósticos, pero en el análisis multivariado sólo 3 de los 5 parámetros conservaron su importancia pronóstica. El estadio y la presencia de compromiso extranodal no fueron significativos, probablemente porque la enfermedad en sí misma se caracteriza, en más de dos tercios de los pacientes, por presentarse en etapa avanzada y con compromiso extranodal, mientras que el compromiso de médula ósea demostró tener un impacto negativo en la sobrevida. Cuando se realizó la comparación, el PIT resultó ser ligeramente más efectivo que el IPI en la estratificación de pacientes con LCTP y luego se propuso como herramienta de referencia. Sin embargo, el PIT se basó en una serie de pacientes que carecía de revisión histológica sistemática y, aunque su valor se confirmó en algunos trabajos^(15,12), sus resultados no fueron superiores a los del IPI y no han sido validados en otros estudios⁽²⁵⁾.

Went et al.⁽¹⁴⁾, en un análisis retrospectivo de pacientes con LCTP NOS, desarrollaron un nuevo índice pronóstico llamado PIT modificado o índice de Bologna que por primera vez tuvo en cuenta un parámetro biológico: la proliferación evaluada por la técnica de inmunotinción Ki-67. Así, éste inte-

gra las características específicas tanto del paciente como del tumor (edad, ECOG, LDH y Ki-67 $\geq 80\%$) e identifica grupos de pacientes con diferentes respuestas a la terapia y sobrevida. Sin embargo, una limitación común de estos últimos estudios es su naturaleza retrospectiva.

El grupo de Massimo et al.⁽¹⁵⁾ realizó un análisis de 243 pacientes con LAIT provenientes de 22 instituciones que participaron del Proyecto Internacional de Linfoma de Células T Periféricas. En base a dicho análisis construyó un modelo pronóstico alternativo para el LAIT, el PIAI, utilizando cinco variables: la edad >60 años, el ECOG ≥ 2 , el compromiso extranodal mayor a 1 sitio, la presencia de síntomas B y el recuento de plaquetas $<150 \times 10^9/\text{mm}^3$. La comparación en este estudio con otros modelos (IPI, PIT), demostró que el nuevo índice pronóstico era más predictivo para pacientes con LAIT.

Gutiérrez-García et al.⁽¹²⁾ en su análisis de 121 pacientes con LCTP, demostraron que los cuatro índices analizados tuvieron utilidad para predecir la respuesta y la sobrevida en pacientes con LCTP, aunque el PIAI fue el más significativo para predecir la SG.

Con el objetivo de evaluar el pronóstico de pacientes con LCTP de manera prospectiva el Proyecto Internacional de Linfoma de Células T Periféricas estableció el Proyecto de Células T que recopiló un conjunto exhaustivo de datos clínicos e información biológica. Así, recientemente, Massimo et al.⁽³¹⁾ presentaron el análisis de los factores pronósticos realizados en una cohorte de pacientes con PTCL NOS pertenecientes al Proyecto de Células T. Se analizaron un total de 311 pacientes con LCTP NOS cuya edad media fue de 63 años (rango 23-83). Este estudio propuso un nuevo modelo que puede estratificar a los pacientes en tres grupos con diferentes riesgos en base a cuatro variables que mantuvieron su impacto en el análisis multivariado: la albúmina <3.5 g/l, el recuento de neutrófilos >6500 , el ECOG >1 y el estadio III-IV. Sin embargo, también se basa sólo en variables clínicas y no tiene en cuenta los nuevos hallazgos moleculares y genotípicos que podrían tener relevancia clínica potencial.

Volviendo a nuestro análisis, no encontramos diferencias significativas en la sobrevida entre cada una de las categorías del IPI, PIT y PIT modificado. El único que demostró una diferencia estadísticamente significativa en la mediana de sobrevida entre ambos grupos de riesgo fue el PIAI. Sin embargo, una de las

principales limitaciones de nuestro estudio es que, al aplicar los índices pronósticos, hemos considerado a los pacientes con LCTP como un solo grupo y esto no es del todo correcto porque la definición de LCTP integra diferentes subtipos histológicos y presentan un comportamiento clínico diferente. Si a esto le sumamos el bajo número de pacientes, este hecho podría constituir un sesgo de nuestro trabajo.

En la actualidad, el tratamiento de primera línea se basa en los esquemas de quimioterapia empleados en el tratamiento de los linfomas B agresivos como el esquema CHOP. Sin embargo, la SG estimada a los 5 años es pobre. Según los datos del Proyecto Internacional de Linfoma de Células T Periféricas⁽⁴⁾, en el que más del 85% de los pacientes había recibido un esquema con antraciclinas, la SG a 5 años varió desde el 32% en el LCTP NOS al 70% en los LCGA ALK+. A pesar de esto, regímenes alternativos sin antraciclinas no han podido conseguir mejorar los resultados. El *Groupe Ouest Est d'Étude des Leucémies et Autres Maladies du Sang* (GOELAMS)⁽³²⁾ diseñó y realizó un ensayo prospectivo, multicéntrico, aleatorizado de pacientes con LCTP. El estudio incluyó a 88 pacientes menores de 70 años con la siguiente distribución: LCTP NOS (65%), LAIT (17%) y LCGA (16%). El objetivo de este ensayo fue comparar el esquema CHOP con un esquema más intensivo (VIP-rABVD). Los pacientes asignados a VIP-rABVD recibieron seis ciclos alternativos cada 4 semanas (3 VIP y 3 rABVD). Los ciclos incluían etopósido, ifosfamida y cisplatino alternando con doxorubicina, bleomicina, vinblastina y dacarbazina. Los resultados de este estudio no demostraron diferencias en las tasas de remisión completa entre las dos ramas de tratamiento. Además, se reportaron más eventos tóxicos en la rama experimental.

Por ello, numerosos estudios se han centrado en diseñar estrategias para mejorar la SG en estos pacientes. El grupo alemán de estudio de LNH de alto grado (DSHNHL) publicó en 2004 los resultados del ensayo clínico NHL-B1 donde se evaluó si la reducción de los intervalos de tratamiento de 3 a 2 semanas (CHOP-14), la adición de etopósido (CHOEP-21) o una combinación de ambos (CHOEP-14) mejoraría el resultado en pacientes jóvenes (menores de 60 años) con linfoma agresivo (incluidos los linfomas B) con valores de LDH normal⁽³³⁾. De los 710 pacientes incluidos, sólo el 13,7% correspondía a LCTP. Los pacientes fueron aleatori-

zados a recibir CHOP-14, CHOP-21, CHOEP-14 y CHOEP-21 siguiendo un diseño factorial 2 x 2. Con una mediana de seguimiento de 58 meses, la adición de etopósido al esquema CHOP demostró beneficio en términos de respuestas globales, siendo de hasta el 90% en aquellos pacientes tratados con esquema CHOEP-14 con una sobrevida libre de enfermedad (SLE) del 70% a los 5 años ($p=0,003$) en los dos esquemas que incluían etopósido. Sin embargo, no demostró beneficio en la SG y se asoció con mayor tasa de toxicidad hematológica y mucositis, pero sin un aumento significativo de segundas neoplasias.

En pacientes mayores de 60 años, DSHNHL diseñó una estrategia similar (NHL-B2)⁽¹⁰⁾ donde se reclutó un total de 689 pacientes, representando los LCTP solo el 5,8%. El análisis demostró que la tasa de respuestas completas fue superior en la rama de CHOP-14 frente al resto de grupos (CHOP-21, CHOEP-14 y CHOEP-21) y que la toxicidad de los esquemas que incluían etopósido fue mayor. Sin embargo, dada la baja proporción de pacientes con LCTP incluidos en ambos estudios es difícil extrapolar estas conclusiones al tratamiento de los LCTP. En el año 2010, Schmitz et al.⁽¹¹⁾ publicaron un análisis de pacientes con LCTP tratados en diferentes ensayos clínicos de DSHNHL. Este análisis incluía pacientes que recibieron tratamiento en el NHL-B1 y NHL-B2 además de pacientes incluidos en el ensayo HI-CHOEP y MEGA-CHOEP. Se incluyeron un total de 320 pacientes de los cuales el 90,3% comprendían los 4 subtipos más frecuentes (LCTP NOS, LCGA ALK+ y ALK- y LAIT).

Los resultados demostraron que (para los pacientes jóvenes con LDH normal) la adición de etopósido al esquema CHOP mejoró las tasas de respuesta. La diferencia en la SLE para los pacientes jóvenes y en especial para aquéllos con LCGA ALK+ tratados con CHOP o CHOEP es importante (SLE a 3 años para pacientes con CHOEP 91,2% vs. 57,1% para pacientes tratados con CHOP, $p=0,012$) aunque no se observó diferencias estadísticamente significativas en los pacientes cuando se excluyó el LCGA ALK+ (SLE a 3 años para pacientes con CHOEP 60,7% vs. 48,3% para pacientes tratados con CHOP, $p=0,057$). Sin embargo, ellos concluyen que, aunque la diferencia en la SLE entre CHOP y CHOEP no fue significativa, sugieren la administración de CHOEP como tratamiento de primera línea a pacientes jóvenes con LCTP. Este mismo estudio mostró que la intensifi-

cación del tratamiento mediante el empleo de otros esquemas no aportó beneficio significativo.

Se encontraron hallazgos similares en el MD Anderson Cancer Center, donde el grupo de Escalón et al.⁽³⁴⁾ mostró que regímenes de quimioterapia más intensivos como Híper-CVAD (ciclofosfamida, vincristina, doxorubicina y dexametasona) no mejoraban la sobrevida de los pacientes con LCTP en comparación con el CHOP.

Volviendo a nuestro estudio, de los 30 pacientes incluidos en el análisis el 90 % (27 pacientes) recibieron tratamiento quimioterápico con intención curativa. De ellos, 11 pacientes recibieron esquema CHOP, 13 pacientes esquema CHOEP y 3 pacientes esquema SMILE. La decisión de utilizar CHOEP estuvo basada en la edad de acuerdo con la bibliografía antes mencionada y los pacientes con linfoma NK/T nasal recibieron esquema SMILE, ya que es el tratamiento de elección en este tipo de linfoma. Debido a que muchos de los pacientes incluidos en este estudio fueron de diagnóstico reciente (menos de 3 meses) y que en otros no se reportó la respuesta al tratamiento en la historia clínica, ya sea porque no volvieron a la consulta o se derivaron a otra institución, en este análisis no se incluyó la respuesta al tratamiento.

Con respecto al TAMO, éste se ha planteado como parte del tratamiento de primera línea por la elevada tasa de recidivas de estos linfomas en un intento de mejorar su pronóstico⁽⁹⁾. Sin embargo la mayoría de las series publicadas son retrospectivas e incluyen en general pocos pacientes con diversas histologías y diferentes regímenes de quimioterapia inicial. Todo ello unido a la ausencia de ensayos clínicos aleatorizados hace difícil demostrar el beneficio del TAMO. El IPI influye en gran medida en los resultados para cada subtipo de LCTP pero, incluso para los pacientes de bajo riesgo, el tratamiento quimioterápico seguido de TAMO está recomendado. La única entidad en la que el IPI influye en las recomendaciones de tratamiento es en el LCGA ALK+. Este subtipo se asocia con un pronóstico más favorable sólo con quimioterapia, sin embargo, la SLE para los pacientes con 0/1, 2, 3 y 4/5 factores de riesgo de IPI es del 80%, 60%, 40% y 25%, respectivamente. Por lo tanto, los pacientes con LCGA ALK+ con IPI de alto riesgo se tratan de manera similar al resto de los pacientes con LCTP y tendrían indicación de TAMO en primera remisión completa⁽⁹⁾.

Si bien no hay ensayos aleatorizados que apoyen

este enfoque, varios estudios prospectivos sugieren un beneficio a favor del TAMO. El estudio prospectivo fase 2 del grupo nórdico (NLG-T-01)⁽³⁵⁾ incluyó 160 pacientes no tratados previamente excluyéndose del estudio los pacientes con diagnóstico de LCGA ALK+. Llegaron a someterse a trasplante 115 pacientes. De acuerdo con su edad, los pacientes fueron tratados con esquema CHOEP-14 o CHOP-14 (pacientes mayores de 60 años) y aquéllos que consiguieron respuesta (72%) fueron sometidos a TAMO con acondicionamiento con BEAM. Cuando compararon la SG a los 5 años de los pacientes que no fueron sometidos a TAMO con respecto a los que sí lo hicieron, se objetivó un 28% en el primer grupo frente a un 61% en el segundo. En este estudio además se observó un mayor beneficio en los pacientes con LCGA ALK- en relación con el resto de los subtipos. Volviendo a nuestro estudio, sólo 2 pacientes (6.7%) realizaron consolidación en primera remisión con TAMO. Este bajo porcentaje se puede explicar por las características propias de la enfermedad como la edad avanzada, el estado funcional y la baja tasa de remisión. De los 2 pacientes que realizaron TAMO, 1 de ellos presentó recaída de la enfermedad a los 6 meses y posterior óbito. El otro paciente se encuentra dentro del primer mes del procedimiento.

Conclusión

Realizamos un estudio retrospectivo de pacientes con LCTP evaluado en una única institución con el objetivo de describir las principales características clínico-patológicas y verificar el valor de los índices pronósticos existente. Los LCTP son un grupo heterogéneo de neoplasias que se caracterizan por presentar enfermedad avanzada, un comportamiento agresivo y una respuesta pobre al tratamiento de primera línea. Existen diferentes índices pronósticos para predecir la respuesta y la sobrevida en pacientes con LCTP, aunque los parámetros elegidos para construir estas puntuaciones son esencialmente los mismos y se basan, en la mayoría de los casos, en variables clínicas. En nuestro análisis el PIAI fue el único que resultó significativo para predecir la SG y encontramos que el nivel de albúmina sérica baja tiene un impacto pronóstico adverso en la SG. Finalmente, una mayor comprensión de las alteraciones genéticas y moleculares ayudará a determinar una mejor estratificación del riesgo y enfoques terapéuticos individualizados.

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

References

- Gallamini A, Stelitano C, Calvi R et al. Peripheral T-cell lymphoma unspecified (PTCL-U): a new prognostic model from a retrospective multicentric clinical study. *Blood*. 2004; 103:2474-2479.
- The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma. *Blood*. 1997 Jun 1; 89(11):3909-18.
- Anderson J. R., Armitage J. O, & Weisenburger D. D (1998). Epidemiology of the non-Hodgkin's lymphomas: Distributions of the major subtypes differ by geographic locations. *Annals of Oncology*, 9(7), 717-720. DOI: 10.1023/A:1008265532487.
- Vose J, Armitage J, Weisenburger D et al. International peripheral T-cell and natural killer/T-cell lymphoma study: Pathology findings and clinical outcomes. *J Clin Oncol*. 2008; 26: 4124-30.
- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (Revised 4th edition). IARC: Lyon 2017.
- Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127(20):2375-2390.
- Tomita N, Motomura S, Hyo R et al. Comparison of peripheral T-cell lymphomas and diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer*. 2007; 109: 1146-1151.
- Coiffier B, Brousse N, Peuchmaur M et al. Peripheral T-cell lymphomas have a worse prognosis than B-cell lymphomas: A prospective study of 361 immunophenotyped patients treated with the LNH-84 regimen. *Ann Oncol*. 1990; 1: 45-50.
- Moscowitz A, Lunning M, Horowitz S et al. How I treat the peripheral T cell Lymphomas. *Blood*. 2014 123: 2636-2644.
- Pfreundschuh M, Trümper L, Kloess M et al. Two-weekly or 3-weekly CHOP chemotherapy with or without etoposide for the treatment of elderly patients with aggressive lymphomas: results of the NHL-B2 trial of the DSHNHL. *Blood*. 2004; 104: 634-641.
- Schmitz N, Trümper L, Ziepert M et al. Treatment and prognosis of mature T-cell and NK-cell lymphoma: an analysis of patients with T-cell lymphoma treated in studies of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group. *Blood*. 2010; 116:3418-3425.
- Gutiérrez-García G, García-Herrera A, Cardesa T et al. Comparison of four prognostic scores in peripheral T-cell lymphoma. *Ann Oncol*. 2011; 22: 397-404.
- The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med*. 1993;329(14):987-994.
- Went P, Agostinelli C, Gallamini A et al. Marker expression in peripheral T-cell lymphoma: a proposed clinical-pathologic prognostic score. *J Clin Oncol*. 2006;24(16):2472-2479.
- Federico M et al. Clinicopathologic characteristics of angioimmunoblastic T-cell lymphoma: analysis of the International Peripheral T-Cell Lymphoma Project. *J Clin Oncol*. 2013;31(2):240-246.
- Bellei M et al. T-cell lymphoma in South America and Europe. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 2012;34, 42-47. ISSN: 1516-8484.
- Savage KJ, Harris NL, Vose JM et al. ALK- anaplastic large-cell lymphoma is clinically and immunophenotypically different from both ALK+ ALCL and peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified: report from the International Peripheral T-Cell Lymphoma Project. *Blood*. 2008;111(12):5496- 504.
- Pedersen M et al. DUSP22 and TP63 rearrangements predict outcome of ALK-negative anaplastic large cell lymphoma: a Danish cohort study. *Blood*. 2017 Jul 27;130(4):554-557.
- Parrilla Castellar ER, Jaffe ES, Said JW et al. ALK-negative anaplastic large cell lymphoma is a genetically heterogeneous disease with widely disparate clinical outcomes. *Blood*. 2014;124(9):1473-1480.
- Wang T, Feldman AL, Wada DA et al. GATA-3 expression identifies a high-risk subset of PTCL, NOS with distinct molecular and clinical features. *Blood*. 2014;123(19):3007-3015.
- Sandell RF, Boddicker RL, Feldman AL. Genetic landscape and classification of peripheral T-cell lymphomas. *Curr Oncol Rep*. 2017;19(4):28.
- Sibon D, Fournier M, Briere J et al. Long-term outcome of adults with systemic anaplastic large-cell lymphoma treated within the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte trials. *J Clin Oncol*.

- 2012;30(32):3939-3946.
23. Savage KJ, Chhanabhai M, Gascoyne RD et al. Characterization of peripheral T-cell lymphomas in a single North American institution by the WHO classification. *Ann Oncol.* 2004; 15: 1467-1475.
 24. Ellin F, Landstrom J, Jerkeman M, Relander T. Real world data on prognostic factors and treatment in peripheral T-cell lymphomas: a study from the Swedish Lymphoma Registry. *Blood.* 2014.
 25. Mourad N, Mounier N, Brière J et al. Clinical, biologic, and pathologic features in 157 patients with angioimmunoblastic T-cell lymphoma treated within the Groupe d'Étude des Lymphomes de l'Adulte (GELA) trials. *Blood.* 2008;111(9):4463-4470.
 26. Chihara D, Oki Y, Ine S et al. Analysis of prognostic factors in peripheral T-cell lymphoma: prognostic value of serum albumin and mediastinal lymphadenopathy. *Leuk Lymphoma.* 2009; 50: 1999-2004.
 27. Watanabe T et al. Pretreatment total serum protein is a significant prognostic factor for the outcome of patients with peripheral T/natural killer-cell lymphomas. *Leukaemia - Lymphoma.* 2010 May;51(5):813-21.
 28. Rodríguez J, Conde E, Gutiérrez A et al: The adjusted International Prognostic Index and beta-2-microglobulin predict the outcome after autologous stem cell transplantation in relapsing/refractory peripheral T-cell lymphoma. *Haematologica.* 92:1067,2007-1074.
 29. Sonnen R, Schmidt WP, Müller-Hermelink HK, Schmitz N. The International Prognostic Index determines the outcome of patients with nodal mature T-cell lymphomas. *Br J Haematol.* 2005; 129(3): 366-72.
 30. Weisenburger DD, Savage KJ, Harris NL et al: Peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified: A report of 340 cases from the International Peripheral T-cell Lymphoma Project. *Blood.* 117: 3402-3408, 2011.
 31. Massimo F et al. Peripheral T cell lymphoma, not otherwise specified (PTCL-NOS). A new prognostic model developed by the International T cell Project Network. *Br J Haematology.* 2018 Jun;181(6):760-769.
 32. Simon A, Pech M, Casassus P et al. Upfront VIP-reinforced-ABVD (VIP-rABVD) is not superior to CHOP/21 in newly diagnosed peripheral T cell lymphoma. Results of the randomized phase III trial GOELAMS-LTP95. *Br J Haematol.* 2010;151(2):159-166.
 33. Pfreundschuh M, Trümper L, Kloess M et al. Two-weekly or 3-weekly CHOP chemotherapy with or without etoposide for the treatment of young patients with good-prognosis (normal LDH) aggressive lymphomas: results of the NHL-B1 trial of the DSH-NHL. *Blood.* 2004;104: 626-633.
 34. Escalón MP, Liu NS, Yang Y et al. Prognostic factors and treatment of patients with T-cell non-Hodgkin lymphoma: the M.D. Anderson Cancer Center experience. *Cancer.* 2005; 103(10): 2091-8.
 35. d'Amore F, Relander T, Lauritzsen GF et al. Up-front autologous stem-cell transplantation in peripheral T-cell lymphoma: NLG-T-01. *J Clin Oncol.* 2012; 30: 3093-3099.



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.

Factores pronósticos en trombocitemia esencial

Prognostic factors in essential thrombocythemia

Cijanes Luna EA ; Sarmiento M.

Academia Nacional de Medicina de Buenos Aires, IIHEMA: Instituto de Investigaciones Hematológicas "Mariano R Castex"

ecijanes@gmail.com

Fecha recepción: 30/6/2020

Fecha aprobación: 2/7/2020



ARTÍCULO ORIGINAL

HEMATOLOGÍA

Volumen 24 n° 2: 44-54

Mayo - Agosto 2020

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

Palabras claves: trombocitemia esencial, factores de riesgo, pronóstico.

Keywords: essential thrombocythemia, risk factors, prognosis.

Resumen

Objetivo

Evaluar asociación entre las características basales de pacientes con trombocitemia esencial (TE) y la ocurrencia de tromboembolia/sangrado/leucemización/mielofibrosis.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio observacional, retrospectivo, de datos capturados prospectivamente de pacientes con TE adultos, seguidos en la División Clínica Hematológica del IIHEMA entre 01/01/1987 y 31/12/2017. Se revisaron las historias clínicas de pacientes adultos con TE que realizaron más de 2 controles pos diagnóstico en Clínica Hematológica IIHEMA y con consentimiento informado otorgado. Se realizó además una revisión de la literatura con relación a los factores pronósticos de esta entidad.

Resultados

Las características de 67 pacientes evaluables fueron edad mediana (Md) 68 años, género femenino 44, masculino 23, hematocrito Md 41%, hemoglobina

Md 13.4 g/dL, leucocitos Md $9.7 \times 10^9/L$, plaquetas Md $852 \times 10^9/L$, esplenomegalia 12, riesgo alto 40, intermedio 15, bajo 12, cariotipo normal 40, JAK-2V617F positivo 29/41. Eventos: 67. Seguimiento Md 6 años. El evento más frecuente fue sangrado (31%) y estuvo asociado con leucocitosis: Md $12.2 \times 10^9/L$ en el grupo con sangrado y $8.8 \times 10^9/L$ en el grupo sin evento ($p=0.003$). El 76% del grupo con sangrado y el 36,96% del grupo sin evento tenían leucocitos $>10.0 \times 10^9/L$ ($p=0.003$). Trombocitosis Md $1.204 \times 10^9/L$ en el grupo con sangrados versus $814.5 \times 10^9/L$ en el grupo sin ($p=0.0098$), no alcanzó significación estadística al comparar la proporción de pacientes con recuento normal ($p=0.46$). Tromboembolia se observó en 24% y se asoció con leucocitosis (Md $11.9 \times 10^9/L$ en el grupo con tromboembolia y $9.2 \times 10^9/L$ en el grupo sin evento ($p=0.02$)). 75% del grupo con eventos y 41% del grupo sin eventos tenían leucocitos $>10.0 \times 10^9/L$ ($p=0.018$). Leucemia 4.4% y mielofibrosis 5.9%.

Conclusión

La ocurrencia de eventos fue similar a la literatura.

La única característica basal asociada a tromboembolia/sangrado fue leucocitosis. La mutación JAK2 p.V617F no influyó en la evolución.

Abstract

Objective

To assess association between basal characteristics of patients with essential thrombocythemia (ET) and thromboembolism/bleeding/leukemic/fibrotic evolution.

Material and methods

An observational, retrospective study was conducted of prospectively captured data from patients with adult ET, followed up at the IHEMA Clinical Hematology Division between 01/01/1987 and 12/31/2017. The medical records of adult patients with ET who performed more than 2 post-diagnosis controls at the IHEMA Hematology Clinic and with informed consent were reviewed. A review of the literature was also carried out in relation to the prognostic factors of this entity.

Results

The characteristics of 67 evaluable patients were: median (Md) 68-years-old, female 44, male 23, hematocrit Md 41%, hemoglobin Md 13.4 g/dL, leukocytes Md $9.7 \times 10^9/L$, platelets Md $852 \times 10^9/L$, splenomegaly 12, high risk 40, intermediate 15, low 12, normal karyotype 40, JAK2V617F positive 29/41. Events: 67. Follow up Md 6 years. The most frequent event was bleeding (31%) and showed association to leukocytosis (Md $12.2 \times 10^9/L$ in the group with bleeding and $8.8 \times 10^9/L$ in the group without event ($p=0.003$)). Leukocytes $>10.0 \times 10^9/L$ was seen in 76% of the group with bleeding versus 36.96% of the group without event ($p=0.003$). Thrombocytosis in the bleeding group was Md $1.204 \times 10^9/L$ versus $814.5 \times 10^9/L$ in the group without event ($p=0.0098$) but did not reach statistical significance when comparing to the proportion of patients with normal counts ($p=0.46$). Thromboembolism (24%) showed association to leukocytosis (Md $11.9 \times 10^9/L$ in the group with thromboembolism and $9.2 \times 10^9/L$ in the group without event ($p=0.02$)). Leukocytosis $>10.0 \times 10^9/L$ was seen in 75% of the group with events and 41% of the group without event ($p=0.018$). Leukemia occurred in 4.4% and fibrosis 5.9%.

Conclusion

Events rate was similar to the literature. The only one basal characteristic associated to event was leukocytosis. JAK2 p.V617F mutation did not influence disease evolution.

Introducción

La trombocitemia esencial (TE) es la neoplasia mieloproliferativa (NMP) crónica BCR-ABL1 negativa de mejor pronóstico. No obstante según estudios retrospectivos la supervivencia es inferior a la de los controles de igual edad y género. Se caracteriza por trombocitosis persistente que puede llegar a ser extrema, y la principal causa de morbimortalidad al corto y mediano plazo es la complicación vascular. A largo plazo adquiere importancia la posibilidad de progresión leucémica o a fase gastada. Respecto a las complicaciones vasculares, la ocurrencia de trombosis se reportó hasta en un 26% y de hemorragia en al menos un 10%, por lo cual es muy importante identificar y controlar los factores de riesgo (FR) de sufrir estas complicaciones⁽¹⁾ de prevalencia alta. En base a ensayos clínicos retrospectivos se identificaron los FR de uso actual que incluyen la edad, historia de trombosis/sangrados, recuento plaquetario y alteraciones cardiovasculares como, por ejemplo, hipertensión arterial no controlada. Estos FR fueron incluidos en sistemas de estratificación de riesgo para el uso clínico a fin de decidir el enfoque terapéutico adecuado al paciente. Así, el tratamiento citorreductor se reserva para mayores de 60 años, trombosis/hemorragia previa o recuento de plaquetas $> 1.500 \times 10^9/L$. No obstante, otras características de la enfermedad tales como la leucocitosis y la mutación del gen *JAK2* también fueron postuladas como FR y, sin embargo, no son contempladas para las recomendaciones terapéuticas estándar. *El International Prognostic Score of Thrombosis* (IPSET-thrombosis), incluyó la mutación JAK2^{V617F} para una mejor caracterización de subgrupos. Este modelo no fue validado en ensayos prospectivos, por lo que sus autores lo consideran una herramienta para el diseño de futuros ensayos más que para la toma de decisiones terapéuticas^(2,3). La evolución fibrótica o blástica está descrita en el 9% y 4% respectivamente⁽¹⁾ y es menos frecuente que en policitemia vera y mielofibrosis primaria. No está claro el rol pronóstico de las mutaciones promotoras de crecimiento celular descontrolado ta-

les como *JAK2* p.V617F (reportada hasta en el 60% de las TE), en *CALR* (30%), en *MPL* (5%), o de la adquisición de nuevas alteraciones genéticas en el transcurso de su evolución en genes tales como *TET2*, *ASXL1*, *IDH1/2*, *EZH2* entre otras⁽⁴⁾, dado que la mayoría de los ensayos clínicos descritos en la literatura tienen diseño retrospectivo.

Objetivo

El objetivo de este estudio fue evaluar la ocurrencia de eventos en los pacientes con TE del Servicio y si existió asociación con las características basales de la enfermedad. Se realizó además una revisión de la literatura con relación a los factores pronósticos de esta entidad.

La importancia clínica de la investigación residió en confirmar la reproducibilidad de los FR en la población de pacientes de este estudio y la posibilidad de identificar otros que permitiesen optimizar el seguimiento y tratamiento futuros.

Materiales y métodos

Estudio observacional, retrospectivo, de datos capturados prospectivamente de pacientes con TE adultos, seguidos en la División Clínica Hematológica del IIHEMA entre el 01/01/1987 y el 31/12/2017. El estudio fue aprobado por el Comité de Docencia e Investigación y Ética de la Academia Nacional de Medicina. Los criterios de inclusión fueron: hombre o mujer mayor de 18 años, TE confirmada según la clasificación vigente al momento del diagnóstico⁽⁵⁻⁷⁾ y revisión según clasificación Organización Mundial de la Salud (OMS) 2016⁽⁸⁾, haber realizado más de 2 controles luego del diagnóstico y haber obtenido consentimiento informado firmado. Criterio de exclusión fue la falta de datos de las variables en estudio. Las características basales presentes en los pacientes al ingreso al IIHEMA elegidas como variables independientes para evaluación fueron edad, género, hematocrito (Hto), hemoglobina (Hb), recuento de leucocitos, recuento de blastos en sangre periférica, recuento de plaquetas, esplenomegalia palpable o medida por ecografía, índice de riesgo para inicio de tratamiento según el *British Committee for Standards in Haematology*⁽⁹⁾ (Tabla 1), cariotipo de médula ósea (el análisis citogenético incluyó cariotipo simple y bandeado G), mutaciones de los genes *JAK2* p.V617F, *CALR* (19p13.13) (exón 9) y *MPL* (1p34.2) (exón 10) y presencia de factores de

riesgo cardiovascular (FRV) (hipertensión, diabetes, tabaquismo activo, hipercolesterolemia).

El análisis de las mutaciones de los genes *JAK2* p.V617F, *CALR* (19p13.13) (exón 9) y *MPL* (1p34.2) (exón 10) se realizó utilizando ADN genómico obtenido a partir de leucocitos totales de sangre periférica. Para *JAK2* p.V617F se efectuó la técnica de ARMS PCR según Jones *et al.*⁽¹⁰⁾. El estudio de mutaciones de *JAK2* exón 12, *CALR* y *MPL* se realizó empleando la reacción de PCR seguida de secuenciación bidireccional utilizando cebadores descritos en la literatura⁽¹¹⁾.

Se consideró evento a la ocurrencia a partir del ingreso al IIHEMA, de episodios registrados en la historia clínica de sangrado, transfusión, tromboembolia (arterial o venosa), evolución a leucemia, evolución a mielofibrosis (MF) y muerte. Para el evento MF se consideró el desarrollo de MF en MO según los criterios de la clasificación vigente al momento del diagnóstico de progresión⁽⁵⁻⁸⁾.

Para la revisión de la literatura se realizó una búsqueda en la base datos de PubMed identificando estudios en idioma inglés publicados desde 1990 hasta agosto de 2018. Se seleccionaron metanálisis, ensayos clínicos terapéuticos aleatorizados, estudios prospectivos y retrospectivos sobre factores pronósticos para TE en base al diseño de los mismos detallado en la sección Materiales y métodos.

Metodología estadística: los resultados se presentan como mediana (Md) y rango para variables numéricas y porcentaje para categóricas. Para comparar variables numéricas se utilizó prueba de Mann-Whitney y el test de Fisher para proporciones. Se consideró significativo un valor de $p < 0,05$. El análisis se realizó con el programa Stata 14.

Resultados

Sobre un total de 92 pacientes con registros evaluables disponibles, 67 fueron ingresados al estudio debido a que cumplieron todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión. Las características basales se describen en las Tablas 2A y 2B.

El cariotipo de médula ósea fue realizado en 63 pacientes (94%), en los otros 4 no estuvo disponible el resultado, por lo tanto, estos últimos se excluyeron del análisis de la variable vs evento. El rearreglo del gen BCR/ABL1 fue adicionalmente descartado por RT-PCR en 45 pacientes. La mutación del gen *JAK2*

TABLA 1 FACTORES DE RIESGO PARA INICIO DE TRATAMIENTO, *British Committee for Standards in Haematology*⁹

Bajo riesgo	Riesgo intermedio	Alto riesgo
Edad <40 años.	Edad 40 a 60 años y/o con FRV *	Edad > 60 años, o
Sin antecedentes de trombosis/hemorragia.	Sin factores de alto riesgo	Antecedente de trombosis/hemorragia mayor relacionada a TE o
Plaquetas <1.500 x10 ⁹ /L	Plaquetas < 1500 x10 ⁹ /L	Plaquetas > 1.500 x10 ⁹ /L

Ausencia de FRV

FRV : factores de riesgo vascular

Tabla 2A. Características basales de los pacientes analizadas por Md.
Variables de estudio

CARACTERISTICAS BASALES	
Edad, años Md (rango)	68 (23-95)
Hto %, Md (rango)	41 (28-58)
Hb g/dl Md (rango)	13.4 (8.3-18)
Leucocitos x10 ⁹ /L, Md (rango)	9.7 (6.6-21.1)
Plaquetas x10 ⁹ /L, Md (rango)	852 (265-5.150)

p.V617F comenzó a realizarse en el IIHEMA en el año 2008. Se la investigó en 41 pacientes, mientras que los restantes en los que este resultado no estuvo disponible se excluyeron del análisis estadístico. En 6 pacientes JAK2 negativos se detectaron 2 casos positivos para la mutación del gen CALR y otros 2 casos para el MPL. Hubo 3 pacientes que no presentaron ninguna de las 3 mutaciones estudiadas.

El tiempo de evolución previo al ingreso al IIHEMA fue en Md 0.5 años (0-13) y el tiempo de seguimiento desde el ingreso al IIHEMA fue en Md 6 años (0.5-20). Al momento del análisis continuaban en seguimiento 36 pacientes.

Se registraron 67 eventos, ocurriendo al menos 1 evento en 37 pacientes (55%); los 30 restantes (45%), no presentaron eventos.

El evento más frecuente fue sangrado, documentado

en 21 pacientes (31%). El tipo de sangrado incluyó epistaxis, gingivorragia, hemorragia digestiva alta y baja, hematuria y durante procedimiento quirúrgico (cesárea). De estos, un total de 12 pacientes (57%) requirieron transfusión de sangre.

El segundo evento más frecuente fue tromboembolia, que se registró en 16 pacientes (24%). El tipo de tromboembolia incluyó isquemia arterial aguda, trombosis de la vena de la retina, accidente cerebrovascular, accidente isquémico transitorio, trombosis venosa profunda, infarto agudo de miocardio, angina inestable y otros.

Se observó evolución a mielofibrosis en 4 pacientes (5.9%) y progresión a leucemia en 3 pacientes (4.4%) luego de 2, 3 y 10 años del seguimiento. Se registraron 5 muertes (7.4%), ninguna atribuible a la enfermedad.

Tabla 2B. Características basales de los pacientes analizadas por n pts.
Variables de estudio

CARACTERISTICAS BASALES	
Género Femenino/Masculino n pts (%)	44 (66%) / 23 (34%)
Score riesgo, n pts (%)	Alto 40/67 (60%) Intermedio 15/67 (22%) Bajo 12/67 (18%)
Plaquetas $>1.000 \times 10^9/L$, % pts	33/67 (50%)
Blastos, %	3 pts. con $\leq 3\%$
Esplenomegalia npts	12/67
Cariotipo MO, npts	Normal: 41/67 Alterado 5/67: del (7)(q32), -Y, del13(q12q14), alteraciones estructurales e hipodiploidías inespecíficas Sin células en división :17/67 Cromosoma Phi: 0/67 No disponible: 4/67
JAK2 ^{V617F} npts (%)	Positivo: 29/67(43.28) Negativo: 12/67(17.91) No disponible: 26/67 (38.81)
CALR n pts.	Positivo: 2/67 Negativo 4/67 No disponible:61/67
MPL n pts.	Positivo: 2/67 Negativo: 4/67 No disponible: 61/67
FRV npts (%)	40/67 (60%)

Hto: Hematocrito, Hb: Hemoglobina, MO: Médula ósea, FRV: Factor de Riesgo Vascular

Resultados estadísticos

El evento sangrado no presentó asociación con la edad $p=0.12$, el género $p=0.2$, el cariotipo $p=1.0$, la mutación *JAK2* p.V617F $p=0.3$, el Hto $p=0.5$, la Hb $p=0.4$, esplenomegalia $p=0.5$, FRV $p=0.2$ ni con el índice riesgo $p=0.5$. Se observó leucocitosis Md $12.2 \times 10^9/L$ (6.1-22.1) en el grupo con sangrado y una Md $8.8 \times 10^9/L$ (4.5-20.7) en el grupo sin evento ($p=0.003$). El 76% de los pacientes del grupo con sangrado y el 36,96% del grupo sin evento tenían leucocitos $>10.0 \times 10^9/L$ ($p=0.003$).

El recuento de plaquetas fue Md $1.204 \times 10^9/L$ en el grupo con sangrados y $814.5 \times 10^9/L$ en el grupo sin evento ($p=0.0098$), pero no alcanzó significancia estadística al comparar la proporción de pacientes con recuento normal ($p=0.46$). Trombocitosis $>1.000 \times 10^9/L$ se observó en 14 (67%) de los pacientes que sangraron. Se observó un mayor número de sangrados en los casos con trombocitosis y leucocitosis simultánea ($p=0.004$).

El evento tromboembolia no se asoció con las características basales edad $p=0.8$, género $p=0.5$, cariotipo $p=0.4$, mutación *JAK2* p.V617F $p=0.9$, Hto $p=0.4$, Hb $p=0.5$, esplenomegalia $p=0.5$, presencia de algún FRV $p=0.5$ ni índice de riesgo $p=0.7$.

Se observó leucocitosis Md $11.9 \times 10^9/L$ (6.1-20.7) en el grupo con tromboembolia y Md $9.2 \times 10^9/L$ (4.5-22.1) en el grupo sin evento ($p=0.02$). Asimismo, el 75% de los pacientes del grupo con tromboembolia y el 41% del grupo sin evento tenían leucocitos $>10.0 \times 10^9/L$ ($p=0.018$).

El recuento de plaquetas fue Md $1.182 \times 10^9/L$ en grupo con tromboembolia y $809 \times 10^9/L$ en grupo sin evento ($p=0.04$), pero esta diferencia no alcanzó significancia estadística al comparar la proporción de pacientes con recuento de plaquetas normal ($p=0.5$).

Trombocitosis y leucocitosis simultánea se asoció a sangrado ($p=0.004$) y tromboembolia ($p=0.035$).

Los eventos progresión a mielofibrosis, transformación leucémica y muerte no se incluyeron en el análisis de univarianza debido a que el número de casos fue insuficiente.

Los resultados estadísticos se detallan en la Tabla 3.

Discusión y revisión de la literatura

Las actualizaciones de los criterios diagnósticos de las NMP realizados por la OMS en 2008 y 2016, permitieron identificar de forma cada vez más pre-

cisa los casos de TE y elaborar conclusiones sobre evolución y pronóstico en base a una población más homogénea y mejor caracterizada.

En la población de pacientes con TE del presente estudio, y a diferencia de lo reportado en otras series⁽¹²⁾, se registraron más hemorragias que tromboembolias. Durante el período de seguimiento de Md 6 años (0.5-20), se registró un índice bajo de leucemización y progresión fibrótica, similar a lo reportado en otros estudios⁽¹⁾.

La estratificación de riesgo para trombosis en TE durante muchos años se ha basado en la presencia de dos factores considerados como tradicionales o clásicos, la edad mayor a 60 años o el antecedente de trombosis⁽¹³⁾. La presencia de FRV también se ha descrito como un factor de riesgo⁽¹⁴⁾, sin embargo en el presente estudio ninguna de estas variables guardó relación con la ocurrencia de tromboembolia.

La leucocitosis también se ha identificado como un factor de riesgo independiente de trombosis, a diferencia de la trombocitosis, la cual no se asocia con eventos trombóticos y sí con sangrado⁽¹⁴⁾.

En este trabajo, la leucocitosis jugó un rol destacado en relación con el desarrollo de trombosis. La trombocitosis de forma aislada no se identificó como un factor de riesgo para el desarrollo de la misma. Sin embargo, la presencia simultánea de trombocitosis y leucocitosis se asoció con complicaciones trombóticas. Con relación a esto último, la leucocitosis podría ser la responsable del evento, dada la relación estadísticamente significativa hallada en este ensayo. Sin embargo, estudios prospectivos nos ayudarían a su confirmación.

Varios estudios en su mayoría retrospectivos han identificado que las mutaciones líderes (drivers) (*JAK2*, *CALR*, *MPL*) en pacientes con TE podrían conferir distintos fenotipos de presentación de la enfermedad. Se ha descrito a la mutación *JAK2* p.V617F como un factor predictivo de trombosis en TE⁽¹⁴⁾, a diferencia de los pacientes con *CALR* mutado, que tendrían un riesgo menor en comparación con aquellos con *JAK2* mutado⁽¹⁵⁾. Los datos sobre el riesgo tromboembólico asociado a la mutación *MPL* son escasos y menos claros, debido, fundamentalmente, a su baja frecuencia en TE⁽¹⁶⁾.

Se han desarrollado algunos modelos pronósticos (*IPSET thrombosis*, *IPSET thrombosis* revisado) que han permitido una mejor caracterización de los

TABLA 3
RESULTADOS ESTADISITICOS VARIABLE VS EVENTO

Sangrado

Variable por Md	Si (n=21)	No (n=46)	p
Edad: Md en años (rango)	77 (23-90)	66 (27-95)	0.12
Hematocrito: Md en % (rango)	40 (28-58)	41.9 (29-54)	0.5
Hemoglobina: Md en gr/dl (rango)	13.3 (8.3-18)	13.6 (8.8-17.4)	0.4
Leucocitos: Md en mm ³ (rango)	12200 (6100-22100)	8800 (4500-20720)	0.003
Plaquetas: Md en mm ³ (rango)	1204000 (500000-5150000)	814500 (265000-2300000)	0.0098

Sangrado

Variable por n (%)	Si	No	p
Genero M/F: n (%)	9 (42.86) / 12 (57.14)	14 (30.43) / 32 (69.57)	0.2
Esplenomegalia si/no: n (%)	4 (19.05) / 17 (80.95)	8 (17.39) / 38 (82.61)	0.5
FRV si/no: n (%)	14 (70) / 6 (30)	26 (57.78) / 19 (42.22)	0.2
Score de riesgo bajo/intermedio/alto n (%)	4 (19.05) / 3 (14.29) / 14 (66.67)	8 (17.39) / 12 (26.09) / 26 (56.52)	0.5
Leucocitosis > 10000/mm ³ si/no: n (%)	16 (76.19) / 5 (23.81)	17 (36.96) / 29 (63.04)	0.003
Trombocitosis > 450000/mm ³ si/no: n (%)	21 (100) / 0 (0)	44 (95.65) / 2 (4.35)	0.468
Cariotipo alterado si/no/nd: n (%)	1 (4.76) / 19 (90.48) / 1 (4.76)	3 (6.52) / 40 (86.96) / 3 (6.52)	1.0
Mutación JAK2 si/no/nd: n (%)	9 (42.86) / 2 (9.52) / 10 (47.62)	20 (43.48) / 10 (21.74) / 16 (34.78)	0.3

nd: no disponible

Tromboembolia

Variable por Md	Si (n=16)	No (n=51)	p
Edad: Md en años (rango)	64.5 (23-87)	70 (27-95)	0.8
Hematocrito: Md en % (rango)	39.5 (28-51)	41.8 (28.3-58)	0.4
Hemoglobina: Md en gr/dl (rango)	13.05 (8.5-16.8)	13.5 (8.3-18)	0.5
Leucocitos: Md en mm ³ (rango)	11900 (6100-20720)	9200 (4500-22100)	0.02
Plaquetas: Md en mm ³ (rango)	1182000 (500000-4000000)	809000 (265000-5150000)	0.04

Tromboembolia

Variable por n (%)	Si	No	p
Genero M/F: n (%)	5 (31.25) / 11 (68.75)	18 (35.29) / 33 (64.71)	0.5
Esplenomegalia si/no: n (%)	3 (18.75) / 13 (81.25)	9 (17.65) / 42 (82.35)	0.5
FRV si/no: n (%)	9 (60) / 6 (40)	31 (62) / 19 (38)	0.5
Score de riesgo bajo/intermedio/alto n (%)	2 (12.50) / 3 (18.75) / 11 (68.75)	10 (19.61) / 12 (23.53) / 29 (56.86)	0.7
Leucocitosis > 10000/mm ³ si/no: n (%)	12 (75) / 4 (25)	21 (41.18) / 30 (58.82)	0.018
Trombocitosis > 450000/mm ³ si/no: n (%)	16 (100) / 0 (0)	49 (96.08) / 2 (3.92)	0.5
Cariotipo alterado si/no/nd: n (%)	1 (6.25) / 13 (81.25) / 2 (12.50)	3 (5.88) / 46 (90.20) / 2 (3.92)	0.4
Mutación JAK2 si/no/nd: n (%)	6 (37.50) / 3 (18.75) / 7 (43.75)	23 (45.10) / 9 (17.65) / 19 (37.25)	0.9

nd: no disponible

pacientes con TE en distintos subgrupos, sin embargo, ninguno ha sido validado en ensayos prospectivos^(2,3).

En el presente estudio, el evento tromboembolia no guardó relación ni con el índice de riesgo ni con la presencia del *JAK2* p.V617F. El modelo de riesgo que se utilizó en este trabajo fue el del *British Committee for Standards in Haematology*⁽⁹⁾. El *IPSET-thrombosis* en su versión original o revisada no fueron aplicados. Sin embargo, futuras investiga-

ciones prospectivas nos ayudarían a determinar su rol y reproducibilidad en los individuos de nuestra población.

Los datos con respecto al riesgo de sangrado en TE son menos claros. Sin embargo, se ha descrito a la trombocitosis extrema (recuento de plaquetas > 1000-1500 x 10⁹/L), la leucocitosis, el antecedente de hemorragia y el uso de aspirina como factores predisponentes^(17,18).

Similar a lo reportado por Palandri y col⁽¹⁷⁾, en el

presente estudio el sangrado fue principalmente mucocutáneo, digestivo y durante procedimiento quirúrgico (cesárea). Además, la leucocitosis guardó una relación significativa con sangrados. La trombocitosis por su parte, a pesar de mostrar una mayor tendencia al sangrado, no alcanzó la significancia estadística al compararse con pacientes que tenían recuentos plaquetarios normales.

La aspirina juega un rol fundamental en la prevención de eventos arteriales en TE. Sin embargo, está asociada a mayor riesgo de sangrados en comparación con otros grupos poblacionales⁽¹⁸⁾. Debe evitarse en pacientes con recuentos de plaquetas $> 1000-1500 \times 10^9/L$, que a su vez, podrían tener asociada una enfermedad de von Willebrand adquirida (AWVD)⁽¹⁹⁾.

El rol de las mutaciones líderes como predictores de sangrado en TE no se encuentra del todo esclarecido. Los pacientes con la mutación del *JAK2* p.V617F parecen tener el mismo riesgo de sangrado que los pacientes sin la mutación⁽¹⁸⁾, en cambio los pacientes *CALR* mutado parecerían tener mayor predisposición en el subgrupo de bajo riesgo en terapia con aspirina⁽²⁰⁾.

En este estudio, similar a lo reportado por otros autores⁽¹⁸⁾, la presencia de la mutación *JAK2* p.V617F no se relacionó con el desarrollo de hemorragias.

Es interesante destacar que los índices pronósticos en TE propuestos actualmente fueron diseñados para predecir trombosis y no sangrados. Además, por el momento no se cuenta con información robusta proveniente de estudios prospectivos que nos ayude a identificar con mayor precisión aquellos pacientes con riesgo incrementado de hemorragias, que generan una morbilidad importante, y en el caso del presente estudio fue el evento más frecuente.

Los pacientes con TE tienen un menor riesgo de progresión (mielofibrosis, leucemia) en comparación con el resto de las NMP⁽¹⁾. Al precisar sobre el diagnóstico de TE, definido por criterios OMS 2016 y excluyendo a individuos con estadios prefibróticos de MFP, se ha encontrado un riesgo de transformación leucémica menor al 1% a 10 años⁽²¹⁾.

Variables como la edad avanzada, anemia, leucocitosis, aumento de la LDH, fibrosis reticulínica en médula ósea y ausencia de la mutación *JAK2* p.V617F se han descrito como factores de riesgo para evolución mielofibrótica^(21,22). Así mismo, la edad ≥ 60 años, recuentos de plaquetas $\geq 1000 \times 10^9/L$, ane-

mia, aumento de la fibrosis reticulínica en médula ósea, y la presencia de ciertas mutaciones como en los genes TP53 y EZH2, han sido descriptas como factores de riesgo de transformación a leucemia aguda^(21,23,24).

En el presente trabajo la tasa de progresión a mielofibrosis y leucemia aguda fue baja en analogía a lo reportado en otras series⁽¹⁾. Sin embargo, ninguna de las características basales evaluadas incluyendo la mutación del *JAK2* p.V617F, se relacionaron con mayor riesgo de transformación o evolución a fase gastada o blástica. Dada la tasa baja de muerte no pudo evaluarse supervivencia.

Conclusiones

La optimización importante del criterio diagnóstico de TE realizada por la OMS en los últimos años es un avance clave para el entendimiento de esta enfermedad. Sin embargo la mayoría de la información clínica, incluyendo la referente a factores pronósticos y evolución, proviene de estudios no prospectivos con algunas excepciones⁽²⁵⁾. En base a ello se sostiene que la supervivencia de los pacientes con TE es en Md 10 años menor que la de la población normal de igual edad y género⁽¹⁾. Posiblemente esto se deba a la prevalencia alta de complicaciones que, como se expuso, alcanza un 40%.

Para la indicación de tratamiento se considera que los pacientes mayores de 60 años o con antecedentes de eventos vasculares o trombocitosis $\geq 1.500 \times 10^9/L$ se beneficiarán con citorreducción, ya que su eficacia fue demostrada en estudios prospectivos que incluyeron esa población^(26,27). Adicionalmente se deberán controlar los factores de riesgo cardiovascular presentes si los hubiera. La leucocitosis fue identificada como FR para trombosis, principalmente arterial⁽¹⁴⁾, incluso en el seguimiento realizado por Campbell de la población de pacientes del ensayo prospectivo terapéutico de hidroxiurea vs anagrelida⁽²⁸⁾. No obstante, la recomendación terapéutica actual no contempla la leucocitosis e incluso se la elude en el caso de tratamientos bloqueadores de la producción plaquetaria. La clasificación IPSET-Thrombosis postuló la mutación *JAK2* p.V617F como factor adverso y, como ya mencionamos, los autores reconocen la debilidad del carácter retrospectivo.

Las limitaciones actuales para la identificación e interpretación precisa de factores pronósticos y

supervivencia en TE son principalmente metodológicas, por el escaso número de ensayos prospectivos. Los estudios disponibles incluyeron poblaciones de pacientes y enfoques terapéuticos heterogéneos, por lo cual la interpretación de los resultados es compleja. El alto porcentaje de complicaciones que padecen actualmente los pacientes con TE a cualquier edad indica que hay variables clínicas del paciente y biológicas de la enfermedad que aún no están controladas. Es importante identificarlas y tratarlas adecuadamente para reducir la morbimortalidad. Es importante también establecer con mayor precisión el grado de reducción en la expectativa de vida, ya que la Md de edad al diagnóstico es 50 años y se presenta incluso en jóvenes de 20-30 años. Esta información es también relevante para la decisión

terapéutica. Es interesante también poder definir si la evolución leucémica o fibrótica es una posibilidad real o guarda relación con alguna NMP enmascarada. Es necesario realizar evaluaciones prospectivas y con un seguimiento razonable que aporten la información faltante y confirmen la disponible para controlar de manera temprana y enérgica los riesgos y garantizar la reducción de la tasa de tromboembolias y sangrados con un uso adecuado de los tratamientos actuales. Las observaciones realizadas en este estudio y las consideraciones planteadas nos motivan a la evaluación prospectiva de un mayor número de pacientes incluyendo la evaluación sistemática de otras variables incluyendo mutaciones líderes, para analizar su posible rol.

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

References

1. Tefferi A, Guglielmelli P, Larson DR et al. Long-term survival and blast transformation in molecularly annotated essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis. *Blood*. 2014;124(16):2507-2513.
2. Barbui T, Finazzi G, Carobbio A et al. Development and validation of an International Prognostic Score of thrombosis in World Health Organization – essential thrombocythemia (IPSET-thrombosis). *Blood*. 2012;120(26):5128-5134.
3. Barbui T, Vannucchi AM, Buxhofer-Ausch V et al. Practice-relevant revision of IPSET-thrombosis based on 1019 patients with WHO-defined essential thrombocythemia. *Blood Cancer J*. 2015;5(11):2-4.
4. Birgegard G. Advances and challenges in the management of essential thrombocythemia. *Ther Adv Hematol*. 2015;6(3):142-156.
5. Murphy S, Iland H, Rosenthal D et al. Essential thrombocythemia: an interim report from the Polycythemia Vera Study Group. *Semin Hematol*. 1986;23(3):177-82.
6. Jaffe ES, Harris NL, Stein H et al. World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues 3rd ed. Lyon: (2001) IARC.
7. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th ed. Lyon: (2008) IARC.
8. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Revised 4th ed. Lyon: (2016) IARC.
9. Harrison CN, Bareford D, Butt N et al. Guideline for investigation and management of adults and children presenting with a thrombocytosis. *Br J Haematol*. 2010;149(3):352-375.
10. Jones A, Kreil S, Zoi K. Widespread occurrence of the JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders. *Blood*. 2005;106(6):2162-2168.
11. Kim SY, Im K, Park SN, Kwon J, Kim JA, Lee DS. CALR, JAK2, and MPL mutation profiles in patients with four different subtypes of myeloproliferative neoplasms: Primary myelofibrosis, essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myeloproliferative neoplasm, unclassifiable. *Am J Clin Pathol*. 2015;143(5):635-644.
12. Besses C, Cervantes F, Pereira A et al. Major vascular complications in essential thrombocythemia: A study of the predictive factors in a series of 148 patients. *Leukemia*. 1999;13(2):150-154.
13. Barbui T, Barosi G, Birgegard G et al. Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European leukemiaNet. *J Clin Oncol*. 2011;29(6):761-770.
14. Carobbio A, Thiele J, Passamonti F et al. Risk factors for arterial and venous thrombosis in WHO-defined essential thrombocythemia: An international study of

- 891 patients. *Blood*. 2011;117(22):5857-5859.
15. Yang Y, Wang X, Wang C, Qin Y. A meta-analysis comparing clinical characteristics and outcomes in CALR-mutated and JAK2V617F essential thrombocythaemia. *Int J Hematol*. 2015;101(2):165-172.
 16. Beer PA, Campbell PJ, Scott LM et al. MPL mutations in myeloproliferative disorders: Analysis of the PT-1 cohort. *Blood*. 2008;112(1):141-149.
 17. Palandri F, Polverelli N, Catani L et al. Bleeding in essential thrombocythaemia: a retrospective analysis on 565 patients. *Br J Haematol*. 2012;156(2):279-281.
 18. Finazzi G, Carobbio A, Thiele J et al. Incidence and risk factors for bleeding in 1104 patients with essential thrombocythemia or prefibrotic myelofibrosis diagnosed according to the 2008 WHO criteria. *Leukemia*. 2012;26(4):716-719.
 19. Michiels JJ. Erythromelalgic Thrombotic Thrombocythemia (ETT) and Hemorrhagic Trombocythemia (HT) in Patients with Essential Thrombocythaemia (ET) and Polycythaemia Vera (PV). *J Hematol Thromboembolic Dis*. 2014;2(6).
 20. Alvarez-Larrán A, Pereira A, Guglielmelli P et al. Antiplatelet therapy versus observation in low-risk essential thrombocythemia with a CALR mutation. *Haematologica*. 2016;101(8):926-931.
 21. Barbui T, Thiele J, Passamonti F et al. Survival and disease progression in essential thrombocythemia are significantly influenced by accurate morphologic diagnosis: A international study. *J Clin Oncol*. 2011;29(23):3179-3184.
 22. Abdulkarim K, Ridell B, Johansson P, Kutti J, Sa-fai-Kutti S, Andréasson B. The impact of peripheral blood values and bone marrow findings on prognosis for patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Eur J Haematol*. 2011;86(2):148-155.
 23. Gangat N, Wolanskyj AP, McClure RF et al. Risk stratification for survival and leukemic transformation in essential thrombocythemia: A single institutional study of 605 patients. *Leukemia*. 2007;21(2):270-276.
 24. Tefferi A, Lasho TL, Guglielmelli P et al. Targeted deep sequencing in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood Adv*. 2016;1(1):21-30.
 25. Ruggeri M, Finazzi G, Tosetto A, Riva S, Rodeghiero F, Barbui T. No treatment for low-risk thrombocythaemia: Results from a prospective study. *Br J Haematol*. 1998;103(3):772-777.
 26. Cortelazzo S, Finazzi G, Ruggeri M et al. Hydroxyurea for patients with essential thrombocythemia and a high risk of thrombosis. *N Engl J Med*. 2001;332(17):1132-1136.
 27. Harrison CN, Campbell PJ, Buck G et al. Hydroxyurea Compared with Anagrelide in High-Risk Essential Thrombocythemia. *N Engl J Med*. 2005;353(1):33-45.
 28. Campbell PJ, Maclean C, Beer PA et al. Correlation of blood counts with vascular complications in essential thrombocythemia : analysis of the prospective PT1 cohort. *Blood*. 2012;120(7):1409-1411.



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.

Caracterización de la anemia hemolítica autoinmune y utilidad de la prueba de antiglobulina directa monoespecífica en el diagnóstico

Characterization of autoimmune hemolytic anemia and usefulness of the monospecific direct antiglobulin test for diagnosis

Toro-Espinosa LA¹, Jaramillo-Arbeláez P².

¹ *Docente, Investigador del Grupo de Hematopatología Molecular, Universidad de Antioquia (UDEA), Asesor científico de Biocientífica Ltda, Medellín, Colombia.*

² *Docente, Investigador del Grupo de Hematopatología Molecular, Universidad de Antioquia (UDEA), Medellín, Colombia. Miembro de la Asociación Colombiana de Hematología.*

lalejandra.toro@udea.edu.co

Fecha recepción: 29/1/2020

Fecha aprobación: 14/7/2020



ARTÍCULO
DE REVISIÓN

HEMATOLOGÍA

Volumen 24 n° 2: 55-64

Mayo - Agosto 2020

Palabras claves: Anemia hemolítica autoinmune, autoanticuerpos, prueba de antiglobulina directa, prueba de antiglobulina directa monoespecífica.

Keywords: autoimmune hemolytic anemia, autoantibodies, direct antiglobulin test, monospecific direct antiglobulin test.

Resumen

La anemia hemolítica autoinmune (AHAI) es una condición clínica caracterizada por hemólisis mediada por autoanticuerpos con o sin activación del complemento. Varios mecanismos se consideran responsables de la génesis de autoanticuerpos y la hemólisis; por ejemplo, los que alteran el ambiente de ontogenia y maduración celular así como el procesamiento de antígenos. Sin embargo, la hemólisis de origen inmune es sólo una de las causas de anemia hemolítica. Se estima que dos terceras partes de los casos son secundarios y acompañan a otras patologías hematológicas. En las últimas décadas, el entendimiento de la naturaleza de los complejos inmunes compuestos por IgG, IgM, IgA y fracciones del complemento ha

brindado información importante para el tratamiento y pronóstico de los pacientes. El objetivo de esta revisión es describir las generalidades y clasificación de la AHAI, identificar la utilidad de la prueba de antiglobulina directa monoespecífica en la detección de los complejos inmunes asociados a la enfermedad y finalmente, describir la relación que existe entre la AHAI y otras patologías hematológicas.

Abstract

Autoimmune hemolytic anemia (AIHA) is a clinical condition characterized by autoantibody-mediated hemolysis with or without activation of the complement system. Several mechanisms are considered responsible for autoantibody genesis and hemolysis;

for example, the alterations in the environment of cell ontogeny and maturation, and the antigen processing. However, hemolysis of immune origin is only one cause of hemolytic anemia, among others. It is estimated that two-thirds of the cases of AIHA are secondary conditions and accompany other hematological pathologies. In recent decades, the understanding of the nature of immune complexes composed by IgG, IgM, IgA and complement fractions has provided relevant information for the treatment and prognosis of patients. This review aims to describe the basic concepts and classification of AIHA, to identify the usefulness of the monospecific direct antiglobulin test in the detection of immune complexes associated with the disease and, finally, to describe the relationship between AIHA and other hematological pathologies.

Introducción

La Anemia Hemolítica Inmune (AHI) es una condición clínica en la que anticuerpos IgG e IgM, predominantemente, se unen a la superficie de los glóbulos rojos e inician su destrucción mediante la activación de la vía del complemento o el sistema retículo endotelial; la vida media del eritrocito entonces se reduce en circulación a menos de 120 días ^(1,2). Según el estímulo antigénico la AHI puede ser autoinmune (AHAI). La AHAJ se clasifica según el rango térmico de los autoanticuerpos y la presencia o ausencia de enfermedad asociada. En las últimas décadas, el entendimiento de la naturaleza de los complejos inmunes que contienen IgG, IgM, IgA y/o fracciones del complemento coadyuvantes de la hemólisis ha brindado información importante para el tratamiento y pronóstico de los pacientes afectados de AHAJ. Esta revisión describe las generalidades y clasificación de la AHAJ, analiza la utilidad de la prueba de antiglobulina directa monoespecífica en la detección de los complejos inmunes asociados y describe la relación documentada con otras patologías hematológicas.

Historia

Georges Hayem (1898) y Fernand Vidal (1907) señalaron que, a diferencia de la anemia hemolítica congénita clásica descrita por Minkowski y Anatole Chauffard, había otro tipo de anemia hemolítica clasificada como “adquirida” que se asociaba con anemia severa y acentuada debilidad. Esa anemia “adquirida” presentaba los signos y síntomas del

síndrome de Vidal que consistían en icterioanemia con crecimiento esplénico, urobilinuria y hemólisis asociada a fragilidad osmótica; bajo ese nombre, describieron casos relacionados con infecciones e intoxicaciones y otros de etiología desconocida ^(1,2,3). Posteriormente, Chauffard demostró la presencia de autohemolisinas en el suero de unos pocos pacientes con anemia hemolítica aguda adquirida y se refirió a ellos como “ictericias hemolisínicas”. Sin embargo, durante muchos años existió la duda de la existencia de un verdadero tipo de anemia hemolítica adquirida y la posibilidad de su relación con reacciones inmunológicas fue casi nula. La existencia de anemia hemolítica adquirida en contraste con la forma congénita fue claramente establecida por Dameshek y Schwartz, quienes evidenciaron la presencia de hemolisinas anormales en pacientes que sufrían de anemia hemolítica aguda y observaron que durante el curso de la enfermedad podía desarrollarse esferocitosis y aumento de la fragilidad osmótica ^(4,5).

En 1940, Dameshek y Schwartz recopilaron los casos publicados de ictericia por anemia hemolítica adquirida y concluyeron que la gravedad de la enfermedad se relacionaba con el grado de hemólisis ⁽⁴⁾. Por la misma época, Robin Coombs describió la aplicación diagnóstica de la prueba de antiglobulina humana para la investigación de la AHAJ y la enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad feto-materna Rh inicialmente descrita por Moreschi en 1908; esta prueba de laboratorio se consideró el estándar de oro en estas patologías y adoptó el nombre de Coombs. Coombs y sus colegas Arthur Mourant y Rob Race realizaron una serie de experimentos exitosos que validaron el método; los hallazgos y su aplicación en diversas enfermedades fueron publicados en *The Lancet* en 1945 y el *British Journal of Experimental Pathology* en 1946⁽⁶⁾. Coombs fue un investigador importante en la creación la Sociedad Británica de Inmunología y su trabajo tuvo un gran impacto internacional que se extiende hasta nuestra década. El papel del sistema del complemento en la fisiopatología de la AHAJ no se reconoció hasta la década de 1950 cuando la hemólisis intravascular se asoció con la activación de la vía clásica del complemento ^(4,5).

Epidemiología

La incidencia de AHAJ es de 1 a 3 casos por 100.000 habitantes/año en la población caucásica; más del

70% de los casos nuevos se diagnostican anualmente en individuos mayores de 40 años siendo más frecuente en mujeres que en hombres en un relación 60:40 ^(1,3).

Mecanismos descritos en la génesis de autoanticuerpos

En condiciones normales, los linfocitos B (LB) son responsables de la respuesta inmune humoral como fuente de anticuerpos protectores innatos y adaptativos. El linaje de los LB es único debido a su fenotipo particular, las funciones reguladoras y los eventos moleculares en los que participa. La ontogenia (desarrollo, diferenciación y maduración) de los LB se lleva a cabo primariamente en el hígado fetal y la médula ósea y en forma secundaria en los tejidos linfoides periféricos. Los LB maduros se ubican en los folículos linfoides del bazo y los ganglios linfáticos y allí responden a antígenos (Ags) extraños proliferando y diferenciándose a células plasmáticas. La activación de los LB depende de la participación de los linfocitos T (LT) y de las células dendríticas foliculares ⁽⁸⁾. Los LB también pueden proliferar rápidamente en los centros germinales (CG) de los órganos linfoides secundarios a partir de los centroblastos; el resultado es la producción de células plasmáticas secretoras de anticuerpos de alta afinidad y en LB de memoria ⁽⁸⁾. En los CG se realizan procesos de selección que permiten liberar a la circulación periférica LB de memoria de alta afinidad y de diferentes isotipos. Estas características se producen gracias a dos mecanismos moleculares: La hipermutación somática y la conmutación isotípica. La hipermutación somática es el conjunto de mutaciones aleatorias que se producen en las regiones variables de las cadenas pesada (VH) y liviana (VL) del receptor del LB (BCR, por su abreviatura en inglés) y que es necesaria para aumentar su afinidad por el Ag. Por su parte, la conmutación isotípica permite el cambio de isotipo (o clase) del BCR; los diferentes isotipos de un BCR, sin cambiar su afinidad por el Ag, se unen a diferentes células efectoras para mediar diferentes tipos de respuesta ^(8,9). La hipermutación somática y la conmutación isotípica están mediadas por muchas enzimas, pero la deaminasa de citosina inducida por activación participa de manera crítica en los dos procesos ⁽⁸⁾.

El delicado equilibrio entre las señales activadoras e inhibitoras que regulan la activación normal de los

LB y su longevidad puede alterarse y predisponer a la producción de autoanticuerpos y el desarrollo de enfermedades autoinmunes ^(9,10,11,12). La identificación de autoanticuerpos en pacientes con glomerulonefritis en 1949 proporcionó la primera evidencia clínica y experimental de que la enfermedad se debe a una reacción continua de anticuerpos del individuo contra antígenos específicos de sus propios órganos ⁽¹³⁾.

La producción de autoanticuerpos por clones de LB autorreactivos y su interacción con los LT colaboradores conducen a la AHAI. Además, en pacientes con AHAI se ha evidenciado ignorancia de los autoantígenos eritrocitarios, activación policlonal de los LB y LT, errores en la tolerancia central o periférica y alteraciones en los inmunomoduladores de la red de citoquinas tales como el incremento de los niveles séricos de IL-1 α , IL-2/IL-2R, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17 y TNF α ^(9,10,11,12,15).

La hiperactivación de los LT en AHAI fue observada por Smirnova y cols. ⁽¹²⁾ en un estudio diseñado para demostrar el papel de los LT en la AHAI y la asociación de la clonalidad con los datos clínicos. Para ello, estudiaron una cohorte de 20 individuos sanos y 33 pacientes con AHAI (13 con otros tipos de anemia y 14 con enfermedad autoinmune). Evaluaron la clonalidad de los LT mediante análisis de los reordenamientos génicos de las cadenas gamma y beta del receptor del LT (TCRG y TCRB) y encontraron que en los pacientes con AHAI había mayor monoclonalidad en los LT CD8+ que en el grupo control: 48,5% y 45,5% de los pacientes tenían una alta incidencia de rearrreglos génicos clonales en TCRB y TRB respectivamente. La persistencia de LT clonales se evidenció después de la terapia y la mejoría clínica, y por eso los autores sugieren el monitoreo de los pacientes a largo plazo ante la probabilidad del desarrollo de tumores de LT.

En el caso de las AHAI secundarias a infecciones bacterianas o virales, se ha descrito la presencia de epítopes antigénicos de proteínas y carbohidratos de los microorganismos que son similares a los epítopes de moléculas presentes en los glóbulos rojos ^(9,10). El mimetismo molecular entre autoantígenos y antígenos extraños es uno de los mecanismos que explican la participación de los patógenos en el inicio o aceleración de la autoinmunidad en combinación con el fracaso para mantener la autotolerancia inmunológica ^(9,10).

Los complejos inmunes (Ag-Ac) pueden activar el sistema del complemento e inducir la lisis osmótica de los glóbulos rojos a través del complejo de ataque a la membrana. La destrucción de los glóbulos rojos también ocurre en el sistema reticuloendotelial porque los macrófagos activados expresan receptores de membrana para la porción Fc de la IgG (FcγR) así como receptores de fracciones del complemento (CR) que pueden reconocer los eritrocitos opsonizados y destruirlos por fagocitosis. También la hemólisis se puede presentar por el mecanismo de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC, por su abreviatura en inglés) mediado por LT CD8+ y células NK que expresan FcγR. La lisis de los eritrocitos mediada por el complemento ocurre en circulación periférica e hígado y la lisis mediada por ADCC y macrófagos en bazo y órganos linfoides ^(10,11). La teoría de la persistencia de clonas de linfocitos autorreactivos, propuesta por Burnet hace más de 60 años, ha ganado un nuevo interés debido al éxito de la terapia de depleción de LB en varias enfermedades autoinmunes ⁽¹⁰⁾.

Recientemente, se describió otro mecanismo asociado a la formación de autoanticuerpos: la presentación de neoantígenos asociados a tumores presentes en la superficie de las células tumorales necróticas. Estos neoantígenos activan directamente la respuesta inmune y promueven la producción de autoanticuerpos, péptidos funcionales y hormonas que promueven la anemia hemolítica paraneoplásica ^(15,16). En los tejidos tumorales se encuentran niveles elevados de IgG, IgM o IgA e infiltrados de LB que se relacionan con el pronóstico de la enfermedad; esto implica que la respuesta humoral tiene un rol importante en su progresión ^(15,16,17).

Clasificación etiológica de las AHAI

Etiológicamente, la AHAI se clasifica en idiopática o primaria, cuando no aparece asociada a otras patologías; y secundaria o asociada, cuando coexiste con patologías que pueden alterar el equilibrio inmunológico como ocurre en algunas infecciones, enfermedades autoinmunes o neoplasias ⁽¹⁸⁾. Por otra parte, la temperatura de reacción de los autoanticuerpos permite la clasificación de la AHAI en tres tipos: i) AHAI por anticuerpos calientes, cuando la temperatura óptima de reacción de los autoanticuerpos es de 37°C; ii) AHAI por anticuerpos fríos, cuando los autoanticuerpos reaccionan a temperaturas inferior-

res a la temperatura corporal (37°C) y temperaturas bajas, particularmente a 4°C; y iii) AHAI mixta, cuando es mediada por ambos tipos de anticuerpos (Tabla 1).

La AHAI por anticuerpos calientes es la más común ^(10,19). Un reciente estudio, de Gutiérrez Jomarrón y cols. ⁽¹⁹⁾, demostró que en una cohorte de 93 pacientes, el 85% desarrolló AHAI por anticuerpos calientes IgG y complemento.

Utilidad de la prueba de antiglobulina directa mono-específica en el diagnóstico de AHAI

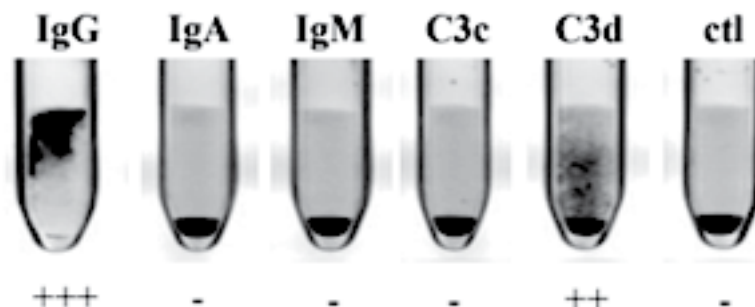
El suero de Coombs que se emplea en la PAD, es una antiglobulina antihumana que permite evidenciar inmunocomplejos presentes en la membrana eritrocitaria mediante una reacción de hemaglutinación. En general, los ensayos de aglutinación en microcolumna pueden detectar como mínimo de 100 a 500 moléculas de inmunoglobulina y de 400 a 1100 de C3 por glóbulo rojo ⁽¹⁸⁾. La PAD de tamizaje utiliza de rutina suero de Coombs poliespecífico con anticuerpos anti-IgG y anti-C3d. En caso de una PAD positiva o PAD negativa con fuerte sospecha clínica, es preciso realizar la PAD mono-específica para detectar de manera individual cada proteína (IgG, IgM, IgA y/o C3b, C3d) fijada a la membrana eritrocitaria. En la PAD es estrictamente necesaria la inclusión de un control de eritrocitos suspendidos en solución salina isotónica para descartar posibles interferencias por aglutinación espontánea ⁽¹⁶⁾.

Los autoanticuerpos más frecuentes en la AHAI están dirigidos contra Ags del sistema Rh ^(1, 3, 10) y son de isotipo IgG; en tal sentido, realizar técnicas de elución en pacientes con AHAI son útiles para determinar la especificidad relativa de los autoanticuerpos IgG contra el sistema Rh. Los Acs IgG son los principales mediadores de la hemólisis extravascular en el sistema reticuloendotelial; las subclases IgG1 e IgG3 acortan la vida de los eritrocitos de manera más eficiente que las IgG2 e IgG4 ⁽²⁰⁾. Los autoanticuerpos de isotipo IgA generalmente se asocian a los IgG y excepcionalmente se encuentran como causantes exclusivos de AHAI ⁽¹⁰⁾ (Imagen 1). La IgM es una inmunoglobulina pentamérica con una alta capacidad de fijación del complemento en comparación con otros isotipos de Igs y media la hemólisis intravascular principalmente y, en menor medida, la extravascular como resultado del depósito de C3d en la membrana del eritrocito ^(1,10). Algunos

Tabla 1. Clasificación etiológica de las anemias hemolíticas autoinmunes (AHAI)

AHAI por anticuerpos calientes (IgG)
A. Primaria (idiopática)
B. Secundaria o asociada a: 1. Desórdenes linfoproliferativos (linfoma Hodgkin) 2. Desórdenes reumáticos (Lupus Eritematoso Sistémico) 3. Neoplasias no linfoides (tumores de ovario) o enfermedades inflamatorias crónicas (colitis ulcerativa) 4. Medicamentos (alfa-metildopa)
AHAI por anticuerpos fríos (IgM)
Síndrome de aglutininas frías
A. Primario (idiopático)
B. Secundario o asociado a: 1. Síndromes linfoproliferativos: leucemia linfocítica crónica, linfoma de LB, macroglobulinemia de Waldeström 2. Infecciones: mononucleosis infecciosa (virus de Epstein Barr), <i>Mycoplasma pneumoniae</i>, <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Treponema pallidum</i> y menos frecuentemente por adenovirus, citomegalovirus, virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), varicela zóster, influenza)
Hemoglobinuria paroxística a frigore (por frío)
A. Primaria (idiopática)
B. Secundaria o asociada a: 1. Infecciones virales de vías respiratorias altas: sarampión, parotiditis, varicela, citomegalovirus, Epstein Barr, adenovirus, influenza A. 2. Infecciones bacterianas: <i>Haemophilus influenzae</i>, <i>Escherichia coli</i>, <i>Treponema pallidum</i>.
AHAI mixta (autoanticuerpos IgM + IgG)
A. Primaria o idiopática
B. Secundaria (procesos reumáticos o neoplásicos)

(Adaptada y modificada de 3 y 18)

**Imagen 1.** Prueba de antiglobulina directa monoespecífica en microcolumnas de gel. Resultados de un paciente con AHA por anticuerpos calientes IgG (3+) y presencia de C3d (2+) en la membrana de los eritrocitos. Ctl: control salino: negativo. Prueba realizada con la tarjeta DC screening I (Diamed/BioRad).

autoanticuerpos de clase IgM están dirigidos contra el sistema I/i, su temperatura óptima de reacción es de 4°C y causan AHAI por anticuerpos fríos. Sin embargo, es importante señalar que los anticuerpos fríos gozan de gran amplitud térmica y pueden reaccionar a temperaturas más altas (Imagen 2).

Como se mencionó anteriormente, la AHAI mixta se caracteriza por la presencia de autoanticuerpos IgG e IgM, acompañada generalmente de complemento. Este tipo de AHAI es menos frecuente (Imagen 3).

El sistema de complemento juega un papel importante en la AHAI por anticuerpos calientes y en la AHAI por anticuerpos fríos. En los primeros casos la IgG unida a los eritrocitos es capaz de fijar el complemento mediante la fracción C1 y activar la vía clásica del complemento. En los segundos casos, los anticuerpos IgM de amplio rango térmico y activos en calor, son potentes activadores del complemento pero generalmente no se detectan en los glóbulos rojos. De hecho, se ha reportado que se unen temporalmente a la membrana, activan el com-

plemento y luego se desprenden, por lo cual solo puede evidenciarse la presencia de fracciones del complemento en las pruebas de Coombs. Después de la activación del complemento, la fagocitosis de eritrocitos opsonizados ocurre principalmente en el hígado, aunque también puede ocurrir la hemólisis intravascular ^(10, 16) (Imagen 4).

Desde el punto de vista diagnóstico, hay dos aspectos fundamentales para la AHAI: evidenciar la existencia de autoanticuerpos contra los eritrocitos y la existencia de signos de hemólisis tales como disminución de la hemoglobina y el hematocrito, reticulocitosis, policromatofilia, poiquilocitosis, hiperbilirrubinemia indirecta, aumento de deshidrogenasa láctica (DHL), disminución de haptoglobina y presencia de hemoglobinuria. Es importante señalar que una PAD negativa no descarta el diagnóstico de AHAI en casos de fuerte sospecha clínica, síntomas y signos de hemólisis ^(1,10,21,22). Las causas más asociadas a este hallazgo comprenden: la destrucción acelerada de las inmunoglobulinas in vivo, características biológicas

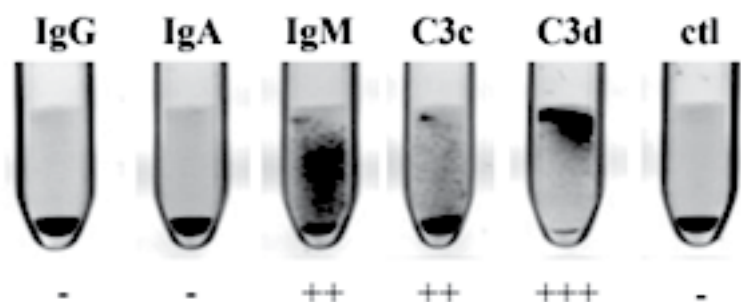


Imagen 2. Prueba de antiglobulina directa monoespecífica en microcolumnas de gel. Resultados de un paciente con AHAI por anticuerpos fríos IgM (2+) y presencia de C3c (2+) y C3d (3+) en la membrana de los eritrocitos. Ctl: control salino: negativo. Prueba realizada con la tarjeta DC screening I (Diamed/BioRad).

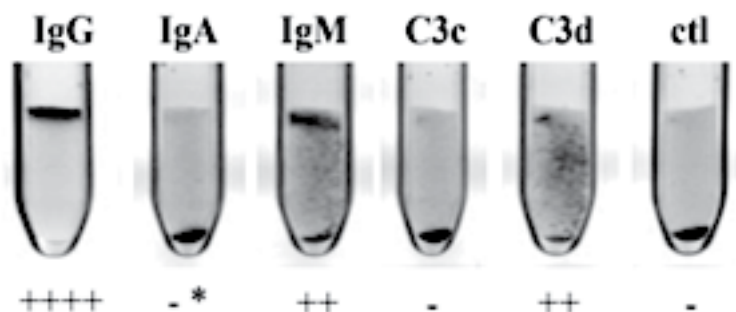


Imagen 3. Prueba de antiglobulina directa monoespecífica en microcolumnas de gel. Resultados de un paciente con AHAI mixta con IgG (4+), IgM (2+) y presencia de C3d (2+) en la membrana de los eritrocitos. Ctl: control salino: negativo. Prueba realizada con la tarjeta DC screening I (Diamed/BioRad).

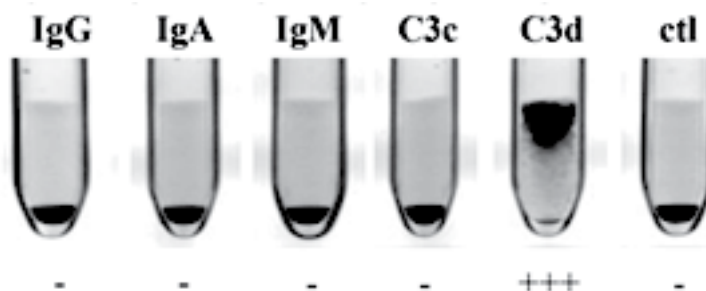


Imagen 4. Prueba de antiglobulina directa mono-específica en microcolumnas de gel. Resultados de un paciente con AHAI con presencia de C3d (3+) en la membrana de los eritrocitos. Ctl: control salino: negativo. Prueba realizada con la tarjeta DC screening I (Diamed/BioRad).

de los autoanticuerpos IgM las cuales pueden disociarse rápidamente de la membrana de los hematíes o limitaciones de sensibilidad y especificidad del método diagnóstico.⁽³⁾

Asociación de la AHAI con otros procesos hematológicos

Se estima que una tercera parte de los casos de AHAI son idiopáticas y dos terceras partes son asociadas a otros procesos hematológicos predominantemente los síndromes linfoproliferativos como leucemia linfocítica crónica en 4 al 10%.⁽¹⁾ En relación con linfomas no Hodgkin recientemente Zhou y cols.⁽²⁵⁾ han informado una incidencia de AHAI en linfoma angioinmunoblástico de células T de 7,31%, linfoma de células marginales de 6,25%, linfoma del manto 2,3% y linfoma no clasificable 4,25%. Los factores más influenciados en la producción de autoanticuerpos implican la fisiopatología tumoral y la terapia farmacológica la cual consta de quimioterapia y análogos de purinas que buscan la inactivación de señal del receptor BCR pero induce a cambios en la regulación de las células T alterando los procesos inmunológicos^(23,24,25). Visco y cols.⁽²⁴⁾ han descrito en un reciente trabajo sobre la etiología de las citopenias en una cohorte de 86 pacientes con LLC al momento diagnóstico, que las citopenias de origen autoinmune se presentaron en 31,3% y las citopenias por insuficiencia medular en 68,6% de los pacientes. La supervivencia en ambos casos, no presentó diferencias estadísticamente significativas. El Mieloma Múltiple (MM) es otra neoplasia hematológica que se asocia con la presencia de AHAI; esta neoplasia es caracterizada por la proliferación monoclonal de células plasmáticas en la médula ósea las cuales sintetizan inmunoglobulinas auto-reactivas que causan destrucción ósea, falla renal y

supresión de la hematopoyesis. En un estudio prospectivo de 18 meses realizado por Kashiap y cols.⁽²⁶⁾, siguieron la evolución de 17 pacientes con MM y observaron que el 41.8% desarrolló AHAI. En un reciente reporte de caso documentado Naithani R y cols.⁽³³⁾ se informó la AHAI como una forma de debut de MM en un paciente de 39 años con signos y síntomas característicos de AHAI; por lo anterior, los autores sugieren que el MM debe considerarse como diagnóstico diferencial de los casos de AHAI. La AHAI también se presenta en neoplasias no hematolinfoides; un reporte de caso publicado por Muñoz-Ibarra et al.⁽²⁷⁾ evidenció en una paciente de 71 años, diabética e hipertensa, signos y síntomas de AHAI como manifestación de un cáncer de células renales (carcinoma de células claras bien definido). Es bien conocido que, los procesos tumorales pueden mostrar su primera manifestación con alteraciones inespecíficas no originadas por invasión local ni por metástasis, sino por los denominados síndromes paraneoplásicos que pueden aparecer mucho tiempo antes de la sintomatología del tumor. En el carcinoma de células renales se ha estimado que un tercio de los pacientes afectados muestran signos y síntomas de síndrome paraneoplásico que comprende desde síntomas constitucionales (fiebre, pérdida de peso), hasta trastornos específicos metabólicos, bioquímicos y hematológicos. La AHAI paraneoplásica se informó inicialmente en un quiste de ovario benigno en 1938 y posteriormente se informó su asociación tumoral en un paciente con cistadenocarcinoma pseudomucinoso en 1945. Posteriormente, otros casos han sido informados en la literatura; en tal sentido, Kah Poh Loh et al.⁽²⁸⁾ describieron un reporte de caso sobre AHAI paraneoplásica en una paciente de 77 años con carcinoma de ovario. Otros autores han evidenciado la presentación de AHAI

en el carcinoma gástrico tipo adenocarcinoma ^(29,30) y sarcoma de Kaposi ⁽¹⁵⁾.

Respecto a las enfermedades autoinmunes, la AHAI también se ha informado en Lupus Eritematoso Sistémico (LES), esclerodermia, artritis reumatoide y colitis ulcerativa ^(15,31). El LES es la entidad que presenta la mayor frecuencia de anemias hemolíticas severas y recurrentes que requieren soporte transfusional durante el curso de la enfermedad. El primer reporte de anticuerpos antinucleares (ANA) publicado en 1957 describió autoanticuerpos anti-DNA en el suero de pacientes con LES y desencadenó el interés de los investigadores respecto a los mecanismos de entrada de dichos autoanticuerpos a la célula. Posteriormente se informó que los ANA (contra RNP, Ro, La y Sm, proteína ribosómica P, proteínas de cromatina y ADN) obtenidos de sueros humanos o mediante inmunización experimental en animales, tienen la capacidad de penetrar en las células vivas e interferir con el DNA tanto in vitro como in vivo. ⁽³¹⁾ Algunos de los mecanismos por los cuales los autoanticuerpos pueden entrar a las células sugieren endocitosis dependiente de la fijación a un FcR o a proteínas de membrana como miosina, calreticulina y caveolina. Algunos autoanticuerpos pueden unirse al DNA extracelular y luego ser llevados al núcleo por transportadores de nucleósidos ⁽¹⁵⁾. Asimismo, el riesgo de algunos tipos de cáncer es significativamente alto en algunas enfermedades autoinmunes; por ejemplo, existe una relación entre el síndrome de Sjögren y el desarrollo de linfomas ⁽¹⁵⁾. A su vez, los tumores pueden inducir la producción de autoanticuerpos de reacción cruzada con los autoantígenos cerebrales; si dichos Acs atraviesan la barrera hematoencefálica pueden causar encefalitis autoinmune ⁽³²⁾.

Adicionalmente, la AHAI puede acompañar algunas situaciones de inmunodeficiencia (hipogamaglobulinemia, infección por el virus de la inmunodeficiencia humana/VIH) y en las infecciones de la infancia por virus hepatotrópicos, en particular citomegalovirus, virus de Epstein Barr y hepatitis B ^(34,35). También existen casos de AHAI en infección por virus de hepatitis A (VHA), aunque no es frecuente en la historia natural de la infección. Por ejemplo, Melo y cols. ⁽³⁶⁾ documentaron un cuadro hemolítico severo en un paciente masculino de 2 meses con hepatitis A, sin antecedentes previos de hemólisis con una PAD positiva y anticuerpos IgM anti-VHA positivos, bili-

rrubina con valores 20 veces mayores a los de referencia y aminotransferasas 40 veces por encima del rango normal. Dado que el diagnóstico se consideró en la fase temprana de la infección viral, los niveles de IgG no fueron significativos; sin embargo, aunque la hemólisis fue mediada por IgM no se descartó la participación de IgG ⁽³¹⁾. En pacientes con hepatitis A, la hemólisis se ha observado cuando hay déficit concomitante de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH). Esta enzima pertenece a la única vía que genera una forma reducida de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH), que puede reducir al glutatión oxidado y proteger a las células del daño oxidativo. Sin embargo, Ozbay y cols. ⁽³⁷⁾ observaron hemólisis en el 87% de pacientes con deficiencia de G6PDH y en el 23% de pacientes con hepatitis viral sin deficiencia de la enzima; un hallazgo que sugiere que hay casos de hepatitis que pueden cursar con AHAI cuando hay alteraciones en el metabolismo del glutatión.

El parvovirus humano B19 (HPV B19) es el agente etiológico del eritema infeccioso. En pacientes con procesos hemolíticos crónicos, el HPV B19 causa crisis aplásicas transitorias y los individuos inmunocomprometidos con viremia persistente de HPV B19 pueden desarrollar aplasia pura de la serie roja. El receptor celular del virus es el Ag de grupo sanguíneo P; esto explica el tropismo viral por los precursores eritroides y la reactividad cruzada de los autoanticuerpos implicados en la AHAI ⁽³⁸⁾. Los autoanticuerpos implicados en la respuesta contra HPV B19 pueden a su vez reaccionar contra los eritrocitos y las plaquetas, especialmente en pacientes con Síndrome de Evans ⁽³⁸⁾.

Conclusiones

La AHAI es una condición clínica caracterizada por hemólisis mediada por autoanticuerpos y acompaña patologías hematológicas, autoinmunes e infecciosas. Los mecanismos implicados en la generación de autoanticuerpos incluyen la alteración del delicado equilibrio entre las señales activadoras e inhibitoras que regulan a los LB y su longevidad, así como el procesamiento de Ags. La naturaleza de los autoanticuerpos y su rango térmico de reacción permiten clasificar la AHAI. La PAD monoespecífica identifica la naturaleza de los inmunocomplejos presentes en la membrana de los eritrocitos sensibilizados y en conjunto con otros análisis de laborato-

rio es necesaria para brindar información al médico especialista para el tratamiento y pronóstico de los pacientes afectados.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Daniel Téllez Paz, Paula

Gaviria García y Marta Mesa por los aportes recibidos para la preparación de este artículo de revisión. A Biocientífica Ltda. y al grupo de hematopatología molecular de la Universidad de Antioquia (UDEA) por el apoyo tecnológico y científico para la investigación en hematología y banco de sangre.

Conflictos de interés: Leidy Alejandra Toro-Espinosa declara tener conflicto de interés porque ha recibido honorarios de Biocientífica Ltda. (Distribuidor de BioRad para Colombia) como conferencista y asesora científica en inmunohematología. Patricia Jaramillo-Arbeláez P no declara ningún conflicto de intereses.

References

1. Naik R. Warm Autoimmune Hemolytic Anemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2015;29(3):445–53.
2. Packman CH. The spherocytic haemolytic anaemias. *Br J Haematol* 2001;112:888–99.
3. Chaudhary R, Das S. Autoimmune hemolytic anemia: From lab to bedside. *Asian J Transfus Sci* [Internet]. 2014;8(1):5.
4. Dameshek W, Schwartz SO. Acute hemolytic anemia (acquired hemolytic icterus, acute type). *Medicine* 1940;19:231–327.
5. Pierce R, Reid M. Bloody Brilliant: a history of blood groups and blood groupers. AABB. 2016
6. Usher R, Coombs R, Fox JB, Spencer HB. Obituaries. (February) 2006;332.
7. Rattarittamrong E, Eiamprapai P, et al. Clinical characteristics and long-term outcomes of warm-type autoimmune hemolytic anemia. *Hematology* [Internet]. 2016;5332(August):1–7.
8. Lebien TW, Tedder TF. B lymphocytes: How they develop and function. *Blood*. 2008;112(5):1570–80.
9. Fagiolo, E., and C. Toriani-Terenzi. 2003. Mechanisms of immunological tolerance loss versus erythrocyte self-antigens and autoimmune hemolytic anemia. *Autoimmunity*. 36: 199–204. Review.
10. Barcellini W. New insights in the pathogenesis of autoimmune hemolytic anemia. *Transfus Med Hemother* 2015;42:287–293.
11. McQueen F: A B cell explanation for autoimmune disease: the forbidden clone returns. *Postgrad Med J*. 2012;88:226–233.
12. Smirnova SJ, Sidorova J V, et al. Expansion of CD8+ cells in autoimmune hemolytic anemia. *Autoimmunity*. 2016;49(3):147–54.
13. Lange K, Gold MM, et al. Autoantibodies in human glomerulonephritis. *J Clin Invest*, 1949, vol. 28 (pg. 50-55)
14. Fagiolo E, Toriani-Terenzi C. Th1 and Th2 cytokine modulation by IL-10/IL-12 imbalance in autoimmune haemolytic anaemia (AIHA). *Autoimmunity*. 2002;35(1):39–44.
15. Wu J, Li X, et al. The roles and applications of autoantibodies in progression, diagnosis, treatment and prognosis of human malignant tumours. Vol. 16, *Autoimmunity Reviews*. 2017. p. 1270–81.
16. Palla AR, Khimani F, Craig MD. Warm autoimmune hemolytic anemia with a direct antiglobulin test positive for C3 and negative for IgG: A case study and analytical literature review of incidence and severity. *Clin Med Insights Case Reports*. 2013;6:57–60.
17. Puthenparambil J, Lechner K, Kornek G. Autoimmune hemolytic anemia as a paraneoplastic phenomenon in solid tumors: A critical analysis of 52 cases reported in the literature. *Wien Klin Wochenschr*. 2010;122(7–8):229–36.
18. Cortés A, Muñiz M. Inmunohematología básica y aplicada. Primera Edición. GCIAMT.2014

19. Gutiérrez Jomarrón I, López Rubio M, et al. Anemias hemolíticas autoinmunes: estudio retrospectivo de 93 pacientes. *Medicina Clínica*. 2020;154(9):331–7.2.
20. Bencomo-hernández DAA, Alfonso-valdés DME, Onel M. Relación entre hemólisis con la presencia y cuantificación de inmunoglobulinas en hematíes, en la anemia hemolítica autoinmune Relation between hemolysis with presence and quantification of immunoglobulin in red blood cells in cases of autoimmune hemolyt. 2010;26(4):315–27.
21. Sekhar Das Sudipta. Clinical and serological characterization. *Annals of Hematology* 88(8):727-32 • February 2009
22. Agramonte M, Montero A, Galan L, Gonzalez A, Cristo V. Caracterización clínica y de laboratorio de la anemia hemolítica autoinmune: estudio retrospectivo de 15 casos. *Rev Cuba Hematol Inmunol y Hemoter [Internet]*. 2015;31(4):426–33.
23. Packman C. The clinical pictures of autoimmune hemolytic anemia. *Transfus med hemother* 2015;42:317-324
24. Visco C, Cortelezzi A, et al. Autoimmune cytopenias in chronic lymphocytic leukemia at disease presentation in the modern treatment era: Is stage C always stage C? *Leuk Lymphoma*. 2014;55(6):1261–5.
25. Zhou, J., Wu, M., et al. Clinical analysis of 20 patients with non-Hodgkin lymphoma and autoimmune hemolytic anemia. 2020; 99 (7), p e19015
26. Kashyap R, Singh A, Kumar P. Prevalence of autoimmune hemolytic anemia in multiple myeloma: A prospective study. *Asia Pac J Clin Oncol*. 2016;12(2):e319–22.
27. Muñoz Ibarra E.L. et al. Anemia hemolítica en el síndrome paraneoplásico en carcinoma de células renales. *Rev Mex Urol* 2013;73(2):92-95
28. Loh KP, Kansagra A, Asik A, Ali S, Dahiya S. Paraneoplastic autoimmune hemolytic anemia in ovarian cancer: A marker of disease activity. *Rare Tumors*. 2015;7(1):4–7.
29. Knief J, Reddemann K, et al. High Density of Tumor-infiltrating B-Lymphocytes and Plasma Cells Signifies Prolonged Overall Survival in Adenocarcinoma of the Esophagogastric Junction. *Anticancer Res*. 2016;36(10):5339–46.
30. Agrawal K, Alfonso F, Report C. Case Report A Rare Association of Autoimmune Hemolytic Anemia with Gastric Adenocarcinoma. 2017;2017:5–10.
31. Aggarwal A. Role of autoantibody testing. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2014;28(6):907–20.
32. Graus F, Saiz A, Dalmau J. Antibodies and neuronal autoimmune disorders of the CNS. *J Neurol*. 2010;257(4):509–17.
33. Naithani, R., & Dayal, N. (2020). Autoimmune Hemolytic Anemia as Presenting Manifestation of Multiple Myeloma. *Indian J of Hematol Blood Transf*. 2020. doi:10.1007/s12288-019-01252-0
34. Troselj-Vukic B, Milotic I, Milotic F, Crnic-Martinov M, Grahovac B. Cytomegalovirus reactivation after low-dose steroid treatment for hemolytic anemia in a patient with primary Epstein-Barr virus infection. *Wien Klin Wochenschr*. 2007;119(13–14):435–7.
35. Vukijc T et al. Cytomegalovirus reactivation after low-dose steroid treatment for hemolytic anemia in a patient with primary Epstein-Barr virus infection. *Wien Klin Wochenschr* 2007 119/13–14: 435–437
36. Melo CLS, Sanguino SIJ, et al. Anemia hemolítica autoinmune postinfección por virus de la Hepatitis A. Reporte de caso. *MedUNAB*. 2010;13(3):173–6.
37. Ozbay Hosnut F, Ozcay F, et al. Etiology of hemolysis in two patients with hepatitis A infection: Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency or autoimmune hemolytic anemia. *Eur J Pediatr*. 2008;167(12):1435–9.
38. Zikidou P, Grapsa A, et al. Parvovirus B19-triggered Acute Hemolytic Anemia and Thrombocytopenia in a Child with Evans Syndrome. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2018;10(1):e2018018.



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.

Sarcoma mieloide mediastinal: un desafío diagnóstico

Mediastinal myeloid sarcoma: challenges in diagnosis

Pagano Vilar, C; Pintos Márquez, A; Romero, A; Zárata, S.

Complejo Médico Policial Churruca-Visca, Buenos Aires, Argentina.

clarisapaganovilar@hotmail.com

Fecha recepción: 2/7/2020

Fecha aprobación: 7/7/2020



ATENEO

HEMATOLOGÍA

Volumen 24 n° 2: 65-68

Mayo - Agosto 2020

Palabras claves: sarcoma mieloide, masa mediastinal, leucemia aguda.

Keywords: myeloid sarcoma, mediastinal mass, acute leukemia.

Abstract

Myeloid sarcoma (MS) is a hematology malignance characterized for an extramedullary proliferation of myeloid blasts in different maturation status. It is a very rare pathology, with an incidence of 2 cases per million. The most committed sites are skin and soft parts, lymphatic nodes, breast and gastrointestinal tract.

The main pathologies that represent a challenge at the time of diagnosis are diffuse large B cell lymphoma, Burkitt or lymphoblastic lymphoma, solid tumors like Ewing sarcoma, thymoma or oat cell, because they can present morphological similarities in microscopical analyses.

Its identification represents a challenge, since there is a high incidence of erroneous diagnoses.

The objective of this case presentation is to consider MS as a differential diagnosis in patients with mediastinal mass, since its early identification and timely treatment are translated into better results.

Introducción

El sarcoma mieloide (SM), también conocido como sarcoma granulocítico o cloroma, es una patología oncohematológica caracterizada por presentar proliferación extramedular de blastos de tipo mieloide en distintos estadios madurativos⁽¹⁾. Puede presentarse en una única o en múltiples localizaciones, ser primario (sin compromiso de médula ósea *-de novo-*), simultáneo a una leucemia mieloide aguda (LMA), síndrome mielodisplásico (SMD) o neoplasia mieloproliferativa (NMP) (*de novo* relacionada a patología mieloide) o presentarse como recaída de una LMA, SMD o NMPs (SM secundario)⁽²⁾.

El SM *de novo* es una entidad muy rara, con una incidencia de 2 casos por millón en población adulta, con leve aumento de la misma cuando se encuentra relacionada a enfermedad sistémica (SM *de novo* relacionada a patología mieloide o SM secundario). Los sitios más frecuentemente comprometidos son piel y partes blandas, ganglios linfáticos, mama y

tracto digestivo⁽³⁾.

Las principales patologías que representan un desafío diagnóstico son: linfoma difuso de células grandes B, linfoma de Burkitt o linfoma linfoblástico, tumores sólidos como sarcoma de Ewing, timoma u *oat cell*, debido a similitudes morfológicas que pueden presentar en la microscopia óptica^(2,4).

Su identificación representa un reto, ya que existe alta incidencia de diagnósticos erróneos.

El objetivo de esta presentación de casos es tener en cuenta al SM como diagnóstico diferencial en pacientes con masa mediastinal, ya que su identificación precoz y el tratamiento oportuno se traducen en mejores resultados.

Caso clínico 1

Paciente masculino de 26 años de edad, sin antecedentes médicos de relevancia. Asistido en la guardia médica de nuestra institución en julio de 2018 por descompensación hemodinámica asociada a actividad eléctrica sin pulso evidenciado por monitoreo cardíaco. Luego de realizarse maniobras de reanimación se realizó tomografía computada de tórax sin contraste que evidenció derrame pericárdico de 43 mm de espesor, asociado a una tumoración mediastinal con desviación de la vía aérea hacia la derecha y derrame pleural leve a predominio derecho. Progresó con taponamiento cardíaco, por lo que requirió pericardiocentesis evacuadora de 1000 ml de tipo hemático, con mejoría clínica. Al examen físico no se evidenciaban visceromegalias ni adenopatías palpables. En su laboratorio de ingreso presentaba como dato positivo anemia leve normocítica normocrómica (Hto: 30%, Hb: 10 g/dL, VCM: 81 fL, CHCM: 34 g/dL), coagulograma alterado que corregía con plasma normal y LDH discretamente aumentada (296 UI/L, VN <250 UI/L). Posteriormente se realizó tomografía de cuello, tórax, abdomen y pelvis con contraste endovenoso, confirmándose la presencia de una tumoración heterogénea en mediastino anterosuperior, asociada a trombosis yugular izquierda. Se realizó punción biopsia de médula ósea: normocelular, con leve hiperplasia eritroide, sin evidencia de blastos. Asimismo se realizó inmunofenotipo de líquido pericárdico, que presentó elementos inmaduros de la serie mieloide, CD34+, CD45+, HLA-DR+, CD117+, CD13+, CD33+, CD38+, MPO leve. Con estos datos se arribó al diagnóstico presuntivo de sarcoma mieloide. Inmedi-

atamente el paciente evolucionó con progresión de insuficiencia respiratoria secundaria a progresión de derrame pleural de leve a moderado, con requerimiento de intubación orotraqueal/asistencia respiratoria mecánica (IOT/ARM) por 24 hs, y colocación de tubo de avenamiento pleural. En el mismo acto quirúrgico se realizó biopsia de la masa mediastinal, confirmándose el diagnóstico de sarcoma mieloide. Frente a este cuadro, y considerando la gravedad del mismo, se inició tratamiento quimioterápico con esquema 7/3 (citarabina e idarrubicina), junto con la realización de radioterapia local de urgencia a una dosis total de 1200 cGy. Concomitantemente recibió tratamiento corticoideo a dosis altas debido a la rápida evolución clínica y al inicio de terapia radiante. Luego de lograda la estabilidad clínica, el paciente pasó a sala general y se realizó punción lumbar, cuyo estudio por citometría de flujo descartó compromiso de sistema nervioso central. Simultáneamente se realizó profilaxis intratecal con metotrexato, citarabina y dexametasona. Se realizó el estudio de HLA tanto del paciente como de su único hermano, que evidenció una compatibilidad de 6/12.

El estudio citogenético de médula ósea no mostró anormalidades y el estudio de mutaciones en el tejido mediastinal [t(8;21), inv16, NPM] no presentó alteraciones.

Durante el ciclo de inducción presentó neutropenia (NTP) febril con foco en piel y partes blandas y endovascular, por lo que realizó tratamiento con antibióticos de amplio espectro con buena evolución. En un episodio posterior de NTP febril a foco respiratorio se obtuvo positividad en galactomananos de lavado bronquioalveolar, sugestivo de aspergilosis pulmonar, por lo que requirió tratamiento antifúngico con anfotericina, rotándose posteriormente a voriconazol, que continúa en la actualidad.

Luego de la recuperación hematológica se otorgó el egreso hospitalario, en plan de inicio de primera consolidación, teniendo como objetivo terapéutico la realización del trasplante de progenitores hematopoyéticos.

Caso clínico 2

Paciente de 41 años de edad que es admitido en la guardia de nuestra institución en mayo de 2018 por síncope vaso-vagal asociado a edema en esclavina. Al examen físico no se evidenciaban adenomegalias ni visceromegalias. No refería síntomas B.

Se realizó tomografía computada donde se observó formación voluminosa en mediastino anterior y dos lesiones ocupantes de espacio cerebrales ubicadas a nivel fronto-temporal derecho y occipital izquierdo, con realce a la sustancia de contraste, sin edema periférico ni desviación de la línea media. Presentaba, además, leucocitosis neutrofílica (leucocitos: $14810/\text{mm}^3$) sin evidencia de elementos inmaduros, LDH: 1371 UI/L y serologías virales negativas.

Fue ingresado a Unidad de Cuidados Intensivos con requerimiento de oxígeno suplementario, sin signos de foco motor, sensitivo ni meníngeo, iniciándose corticoterapia.

Se realizó fibrobroncoscopía y mediastinoscopía con toma de muestra de masa mediastinal para estudio anatomopatológico. Por evolucionar con mayor insuficiencia respiratoria, con requerimiento de ventilación no invasiva, se inició radioterapia local de urgencia.

Se recibe resultado de anatomía patológica que informa sarcoma mieloide, en biopsia de médula ósea e inmunofenotipo de LCR no se evidencia compromiso por la enfermedad.

Se inició protocolo 7/3 (mitoxantrona + citarabina), junto con la administración de terapia intratecal. Se programó terapia radiante de las lesiones encefálicas que debió ser suspendida ya que el paciente evolucionó desfavorablemente con deterioro del sensorio y progresión de insuficiencia respiratoria, con requerimiento de IOT/ARM y drogas inotrópicas.

Se constató en tomografía de cerebro hemorragia intraparenquimatosa fronto-temporal con volcado ventricular, falleciendo al cabo de 24 hs.

Discusión

Dentro del algoritmo diagnóstico de una masa mediastinal debemos incluir al SM.

El desafío se plantea dado el acceso difícil a la toma de muestra para el estudio anatomopatológico, teniendo en cuenta que es el único método para arribar a un diagnóstico certero.

Dada las similitudes morfológicas que pueden presentar los distintos diagnósticos diferenciales a la microscopía óptica, resulta fundamental la imple-

mentación de un panel de inmunohistoquímica adecuado.

Es preciso destacar que en los SM *de novo* tanto las localizaciones múltiples como el compromiso ganglionar y de SNC constituyen factores de mal pronóstico adicionales.

Sin embargo no está definido aún qué tipo de examen complementario por imágenes es el más adecuado para la estadificación.

En aquellos casos de diagnóstico inicial equívoco, situación frecuente en pacientes con estas características, la leucemización de la enfermedad permite el diagnóstico retrospectivo de SM.

Las principales estrategias terapéuticas involucran el uso de quimioterapia sistémica con protocolos utilizados en LMA asociada a radioterapia/tratamiento quirúrgico local.

El inicio precoz de estas maniobras logra mayores tasas de remisión completa en primera línea⁽⁵⁾, lo cual ofrece mayor sobrevida libre de eventos y sobrevida global.

El objetivo último es acceder al trasplante alogénico de médula ósea, con mejores resultados estadísticamente significativos en comparación con los pacientes no trasplantados⁽²⁾.

De todos modos, no se encuentran estandarizados al momento métodos sensibles ni específicos para determinar respuesta al tratamiento instaurado.

Conclusión

Dada la baja incidencia de esta patología, asociada a su alta morbilidad y la tasa importante de errores diagnósticos, resulta relevante tenerla en cuenta como diagnóstico diferencial de una masa mediastinal, para así lograr un inicio rápido de la terapéutica de primera línea y poder acceder, con la mayor celeridad y con fines curativos, a un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos.

De todos modos se precisa aún de estudios prospectivos randomizados o metanálisis (con el fin de aumentar la muestra) que nos permitan alcanzar una mejor terapéutica dirigida y optimizar los métodos de estadificación y seguimiento, para poder otorgar a este tipo de pacientes una mayor sobrevida global.

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

References

1. Campo E, Swerdlow SH, Harris NL et al. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood*. 2011;117(19):5019-5032.
2. Pileri S et al. Myeloid sarcoma: clinic-pathologic, phenotypic and cytogenetic analysis of 92 adult patients. *Leukemia*. 2007 Feb;21(2):340-50.
3. Goyal G, Bartley A, Patnaik M et al. Clinical Features and outcomes of extramedullary myeloid sarcoma in the United States: analysis using a national data set. *Blood Cancer J*. 2017 Aug;7(8):e509.
4. Meis JM, Butler JJ, Osborne BM et al. Granulocytic sarcoma in nonleukemic patients. *Cancer*. 1986;58(12):2697-2709.
5. Lazzarotto D et al. Clinical outcome of myeloid sarcoma in adult patients and effect of allogeneic stem cell transplantation. Results from a multicenter survey. *Leukemia research*. 2017 Feb;53:74-81.



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.

Leucemia promielocítica aguda con compromiso de sistema nervioso central: a propósito de un caso

**Acute promyelocytic leukemia, with CNS commitment:
about a case**

Asson C, González Hobecker M, Stenberg E, Fernández C, Bernard H

Hospital Escuela de Agudos Dr. Ramón Madariaga, Posadas, Misiones.

fernandagonzalezhobecker@gmail.com

Fecha recepción: 22/4/2020

Fecha aprobación: 7/7/2020



CASO CLÍNICO

HEMATOLOGÍA

Volumen 24 n° 2: 69-72

Mayo - Agosto 2020

Palabras claves: leucemia promielocítica aguda,
sistema nervioso central,
punción lumbar.

Keywords: acute promyelocytic leukemia,
central nervous system,
lumbar puncture.

Caso clínico

Paciente de sexo femenino de 21 años de edad que consultó por cefalea y gingivorragia. Al examen físico presentaba hematomas, sin signos de foco motor, sensitivo ni meníngeos.

Laboratorio: Hto: 25%, Hb: 9.2 g/dL, leucocitos: 90360/mm³ (70% promielocitos), plaquetas: 27000/mm³, TP: 45%, APTT: 34.4 seg, fibrinógeno: 147 mg/dL.

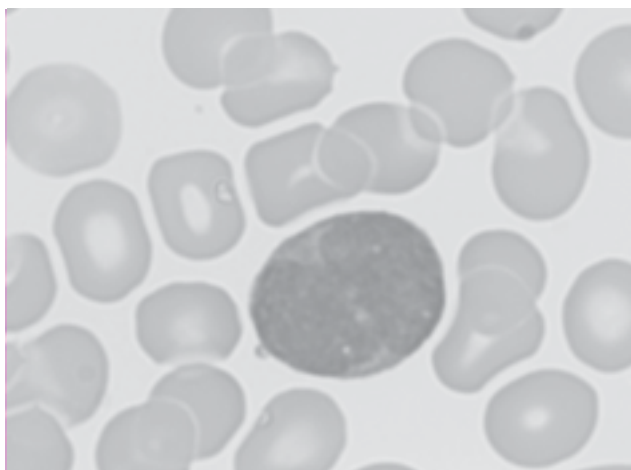


Imagen 1. Frotis de sangre periférica

Se realizó un aspirado de médula ósea, arribando al diagnóstico de leucemia mieloide aguda FAB M3.

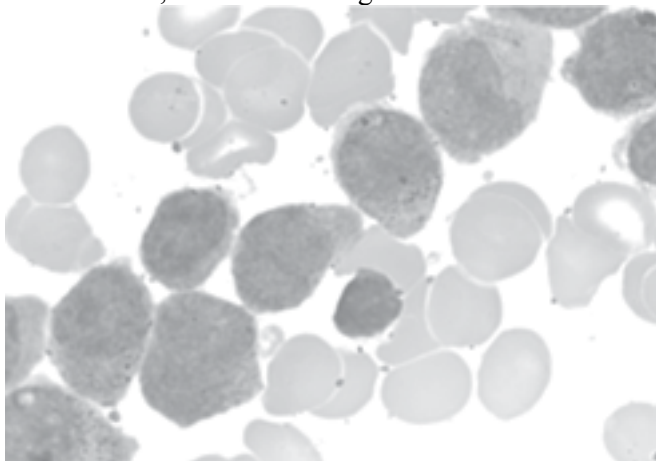


Imagen 2. Extendido de médula ósea

Citometría de flujo (CMF) de médula ósea: 87% de blastos mieloides: CD45+, CD34-, HLA-DR-, CYMPO+, CD117-/+, CD13++,CD33++, CD56-, CD2-.

Citogenético de médula ósea:

46,XX,T(15;17)(Q22;Q12)[4]/

46,XX,DER(17)T(15;17)(Q22;Q12)

T(8;17)(Q3 P13)[21]/

46,XX[3].

RT-PCR de PML/RARA t(15,17)(q22,q12): positi-

vo - isoforma BCR-2.

Se inició tratamiento con tretinoína (ATRA), hidroxiurea y corticoides.

Simultáneamente se realizó RNM de cerebro donde se evidenció tejido isointenso que infiltra la base de cráneo en el hueso esfenoidal, infiltración del nervio trigémino izquierdo en su porción cavernosa y cisternal. En el mismo estudio pudo observarse en la convexidad parietal derecha y en la región occipital medial tejido de características similares que des-

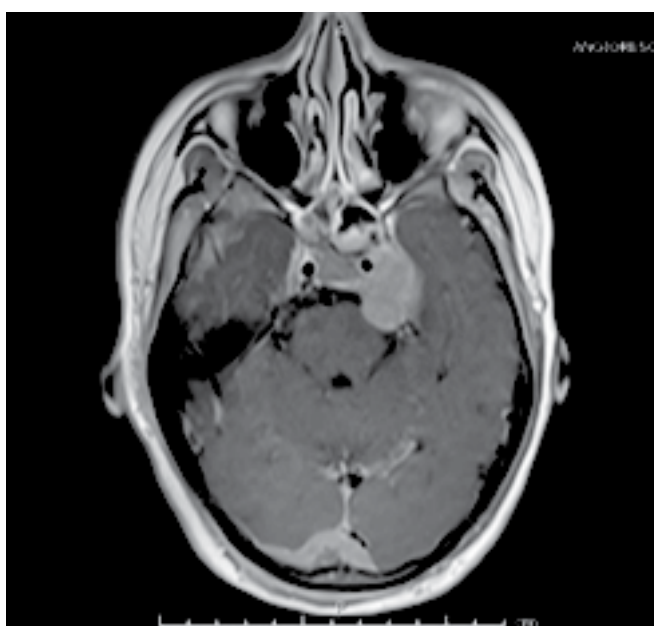


Imagen 3. Corte axial: T1 con contraste endovenoso

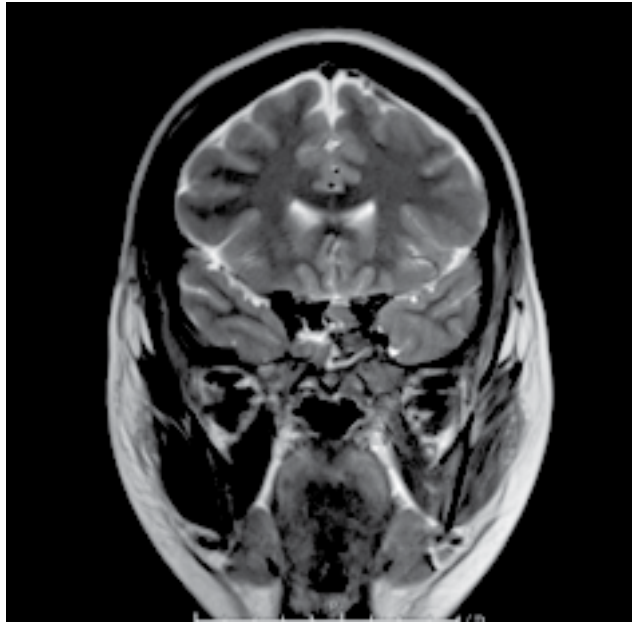


Imagen 4. Corte coronal: T2 con contraste endovenoso

plazaba ventralmente al seno sagital superior.

El fondo de ojo reflejó hemorragias retinianas superficiales.

Por sospecha de infiltración de enfermedad de base y una vez resuelta la coagulopatía se realizó punción lumbar. La CMF de líquido cefalorraquídeo (LCR) evidenció 50% de blastos mieloides.

Se asumió como LMA M3 de alto riesgo, con compromiso de sistema nervioso central (SNC).

Recibió esquema de inducción protocolo PETHEMA con triple terapia intratecal (total de 7) con cese de los síntomas y negativización del LCR. Se repitieron estudios por imágenes con mejoría de las lesiones anteriores.

Actualmente, la paciente se encuentra realizando fase de mantenimiento con buena respuesta a la quimioterapia.

Discusión

La leucemia promielocítica aguda (LPA) es un subtipo de leucemia mieloide aguda (LMA), clasificada por la FAB como LMA M3 y M3v microgranular, y según la OMS dentro del grupo de LMA con alteraciones genéticas recurrentes.

Se caracteriza por la translocación (15;17) generando el gen de fusión PML-RAR alfa, siendo su forma de presentación hiperaguda con coagulopatía severa.

La infiltración extramedular en LPA puede ocurrir

en la recaída de la enfermedad, siendo esto extremadamente raro al momento del diagnóstico, determinando así un pronóstico desfavorable.

La piel y el sistema nervioso central resultan ser los sitios más afectados. Dentro de los factores de riesgo asociados a la infiltración extramedular se encuentran: la edad menor a 45 años, hiperleucocitosis (leucocitos $>10000/\text{mm}^3$), morfología microgranular, isoforma bcr3 PML-RAR, expresión de CD2 y/o CD56.

El estudio PETHEMA identificó la hemorragia del SNC durante la inducción como un factor de riesgo independiente para la recaída del SNC⁽¹⁾.

La punción lumbar no está recomendada de forma rutinaria en estos pacientes. Sin embargo, ante la presencia de síntomas neurológicos, se requiere de dicho procedimiento tanto para el diagnóstico como el tratamiento⁽²⁾.

Chow et al. recomiendan la punción lumbar en el momento del diagnóstico de LPA, inmediatamente después de la resolución de la coagulopatía para diagnosticar la afectación del SNC⁽³⁾.

El tratamiento del compromiso del SNC incluye terapia local como ser quimioterapia intratecal (citara-bina, metotrexato e hidrocortisona) e irradiación del SNC, y terapia sistémica (ATRA y quimioterapia)⁽²⁾.

Diversos autores describen que el ácido trióxido de arsénico (ATO) cruza la barrera hematoencefálica logrando controlar la enfermedad en pacientes con

recaída del SNC. Sin embargo, otros han sugerido que el ATO no alcanzaría las concentraciones terapéuticas adecuadas en el LCR^(6,7).

Conclusión

Se describe una paciente con diagnóstico de LPA y compromiso del SNC, una forma de presentación poco habitual con escasos reportes en la literatura.

La recaída extramedular puede presentarse en el SNC. De los factores de riesgos asociados la paciente presentó únicamente hiperleucocitosis.

Aún no existe una conducta clara con respecto a estos pacientes en los que, ante la presencia de síntomas neurológicos y una vez superada la coagulopatía, se recomienda la realización de punción lumbar para diagnóstico y tratamiento.

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

References

1. Albano F, Specchia G. Extramedullary Disease in Acute Promyelocytic Leukemia: Two-In-One Disease. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2011;3(1):e2011066.
2. Misuk J, Hyun S C, Seongsoo J, Chan JP and col. Acute Promyelocytic Leukemia Presenting with Central Nervous System Involvement. *Korean J Lab Med*. 2011. 31(1):9.
3. Chow J, Feusner J. Isolated central nervous system recurrence of acute promyelocytic leukemia in children. *Pediatr Blood Cancer*. 2009 Jan;52(1):11-3.
4. Collins C, Knoderer H. Central Nervous System Involvement at the Time of Presentation in Acute Promyelocytic Leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2010;54:603-605
5. Kanakura Y, Yonezawa T, Hamaguchi Y and col. Acute promyelocytic leukemia with an intracerebral mass and meningeal involvement after treatment of non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer*. 1987 Jan 1;59(1):94-8.
6. Helwig A, Klemmb M, Schuttig R, Rollig C and col. Arsenic-induced APL differentiation in cerebrospinal fluid. *Leuk Res*. 2007 May;31(5):703-5.
7. Knipp S, Gattermann N, Schapira M and col. Arsenic in the cerebrospinal fluid of a patient receiving arsenic trioxide for relapsed acute promyelocytic leukemia with CNS involvement. *Leuk Res*. 2007 Nov;31(11):1585-7.



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.

Uso de plasma de convaleciente en el tratamiento de paciente con neumonía por COVID-19. Reporte de caso.

Use of convalescent plasma in the treatment of patient with pneumonia due to COVID-19. Case report

Ávila Rueda J¹, Rabinovich O¹, Young P², Trimarchi H³, Montes A², Jordán R⁴, Martínez J⁴, Finn B², Murias G⁵, Ceresetto J¹, Duboscq C¹, Ernst G⁶, Acosta J¹, Cimillo F¹, Alvarado G¹, Sernaque C¹, Flegler N¹, Oliveros K¹, Rivarola S¹, Stemmelin G¹.

¹ Servicio de Hematología, Hospital Británico de Buenos Aires

² Servicio de Clínica Médica, Hospital Británico de Buenos Aires

³ Servicio de Nefrología, Hospital Británico de Buenos Aires

⁴ Servicio de Infectología, Hospital Británico de Buenos Aires

⁵ Servicio de Terapia Intensiva, Hospital Británico de Buenos Aires

⁶ Comité Asesor Científico, Hospital Británico de Buenos Aires

jaavilar@gmail.com

Fecha recepción: 28/7/2020

Fecha aprobación: 18/8/2020



REPORTES DE CASOS, RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS CLÍNICOS

HEMATOLOGÍA

Volumen 24 n° 2: 73-79

Mayo - Agosto 2020

Palabras claves: COVID-19,
neumonía,
plasma,
convaleciente,
caso clínico.

Keywords: COVID-19,
pneumonia,
plasma,
convalescent,
clinical case.

Resumen

El SARS-CoV-2, conocido como COVID-19, es un virus perteneciente a la familia de los coronavirus, cuya característica es el desarrollo de enfermedades respiratorias, principalmente neumonía, con alto riesgo de progresión a síndrome de dificultad respiratoria aguda, la cual a su vez se relaciona con altos índices de morbi-mortalidad que varían según cada caso. Si bien no se dispone de un esquema de manejo específico, el uso de plasma de convalecientes se ha propuesto como una alternativa terapéutica por lo que en la actualidad se realizan estudios para evaluar su efectividad, aunque hay reportes prelimi-

nares de trabajos publicados con resultados alentadores en función del bajo riesgo frente a los beneficios potenciales de esta terapéutica. Presentamos la experiencia respecto al uso de plasma de convaleciente en un paciente de 24 años, con diagnóstico de neumonía por COVID-19 en nuestra institución.

Summary

Sars-Cov-2, known as COVID-19, is a virus belonging to coronavirus family, whose characteristic is the development of respiratory diseases, mainly pneumonia, with a high risk of progression to acute respiratory distress syndrome, which in turn

is related to high morbidity and mortality rates that vary from case to case. Although a specific management scheme is not available, the use of convalescent plasma has been proposed as a therapeutic alternative, so studies are currently being carried out to evaluate its efficacy, although there are preliminary reports of published studies with encouraging results with low risk and possible benefits of this therapy. We present our case experience regarding the use of convalescent plasma in a 24 years old patient diagnosed with COVID-19 pneumonia at our institution.

Introducción

La enfermedad por coronavirus tiene como característica principal el desarrollo de síntomas respiratorios que van desde el resfriado común, con posibilidad de progresar a cuadros más graves como el síndrome respiratorio agudo (SARS)⁽¹⁾. Desde los primeros reportes generados en la ciudad de Wuhan en diciembre de 2019 a la fecha de edición de este artículo se han confirmado 11.093.182 casos, siendo 122.524 de ellos identificados en la República Argentina⁽²⁾. A pesar de que en la actualidad no se dispone de un tratamiento específico, el uso de plasma de convalecientes es una alternativa terapéutica que ha tomado fuerza durante el último periodo en función de los resultados positivos obtenidos durante su uso en pacientes afectados por MERS, influenza H1N1 y, en el contexto local, la fiebre hemorrágica argentina⁽³⁻⁵⁾.

Presentación del caso

Paciente masculino de 24 años con antecedente de insuficiencia renal crónica estadio V secundaria a nefropatía por IgA diagnosticada en marzo de 2014 con requerimiento de trasplante renal con donante vivo relacionado (madre) en septiembre de ese mismo año. Posteriormente, en julio de 2015, intercurrió con insuficiencia renal crónica reagudizada asociado a tricitopenia y microangiopatía trombótica que se interpretaron como síndrome urémico hemolítico (SUH) atípico luego de realizar estudios de confirmación diagnóstica, por lo que requirió plasmáferesis y terapia con eculizumab, con estabilización del cuadro. Desde entonces recibe tratamiento inmunosupresor con micofenolato y belatacept mensual más infusión de eculizumab cada 15 días. Así mismo recibe tratamiento antihipertensivo con enalapril y bisoprolol.

Ingresa el 20 de junio de 2020 por cuadro de 72 horas de evolución consistente en anosmia, a la cual se asoció fiebre 24 horas previas a la consulta, y cefalea frontal de intensidad 6/10 en escala de dolor. Al examen físico se encontró hemodinámicamente normal, sin disnea (con una PaO₂/FiO₂: 400 mmHg) y como único hallazgo la presencia de crepitantes finos en ambos campos pulmonares a la auscultación. Se le practicaron estudios de laboratorio (hemograma, coagulograma, hepatograma) reportados como normales a excepción de la creatinina y urea séricas que se informaron como: 3.54 mg/dl y 128 mg/dl respectivamente. Se realizó además una tomografía computada (TC) de tórax donde se evidenció múltiples consolidaciones del parénquima pulmonar con broncograma aéreo y áreas en vidrio esmerilado distribuidas de forma difusa en ambos pulmones con mayor representación en lóbulos inferiores. Se decidió su internación para estudio y manejo y se solicitó PCR en tiempo real para COVID-19 la cual fue positiva. Inició tratamiento con cefepime y claritromicina teniendo en cuenta contexto y antecedentes del paciente; así mismo se solicitaron laboratorios complementarios (dímero D, LDH, ferritina, PCR) considerados dentro del protocolo de estudios para neumonía por COVID-19 institucional.

Desde su ingreso estuvo estable, hasta el 5to día que intercurrió con fiebre persistente, episodios de disnea asociado a desaturación (SatO₂: 93% 0.21 y PaFi: 319) a aire ambiente: indicándose oxígeno por cánula a 3 litros/minuto así como la realización de una segunda TC de tórax que informó mayor representación del número y del tamaño de las consolidaciones del parénquima pulmonar, así como de las áreas en vidrio esmerilado, comprometiendo en mayor grado el lóbulo medio y ambas bases pulmonares. También se evidenció en el laboratorio incremento importante del dímero D, ferritina, PCR y procalcitonina (ver Tabla 1 A). Dado la progresión clínica e imagenológica de la neumonía se realizó una reunión multidisciplinaria con los servicios tratantes y el Comité de Bioética Institucional donde se analizaron experiencias publicadas hasta ese momento y la evidencia disponible de no daño. Se acordó su uso compasivo previa explicación y firma de consentimiento informado, administrando el 28 de junio de 2020, 200 ml de plasma de convaleciente obtenido de donante sin antecedentes transfusionales mediante aféresis realizada el 8 de Junio de

Tabla 1 A.

Fecha	20/06/20	23/06/20	27/06/20	28/06/20
Hematocrito (%)	35	30	31	29
Hemoglobina	11,4	9,9	10	9,6
Leucocitos /mm ³	4500	10000	7200	3700
Neutrófilos /mm ³	3200	8200		2300
Linfocitos /mm ³	600	500		800
Plaquetas /mm ³	141000	132000	121000	117000
Urea	128	106	78	70
Creatinina	3,5	3,06	2,79	2,75
GOT	16	23	24	19
GPT	10	23	30	26
Bilirrubina total	0,4	0,3	0,3	0,4
LDH		226	323	305
Ferritina		2389	2223	2111
TP	100	76		100
APTTt	29	39		29
Fibrinógeno		411		
Dímero D		292		
Procalcitonina			0,26	
PCR			3	7,3
Ácido láctico				19,8
Ph arterial	7,34			7,49
PO2 arterial	105			45,4
P CO2 arterial	30,4			27
HCO3 arterial	16,2			19,9
PaFi	400	400	400	319
SOFA	3	2	2	3
Vasoactivos	NO	NO	NO	NO
IOT/ARM	NO	NO	NO	NO
Temperatura máx °C	38	38	38	39
Infusión de plasma c				200 mL*

*Cantidad de plasma de convaleciente infundida el 28 de Junio de 2020

2020 en nuestra institución, con título de IgG para SARS-COV-2 de 16.6 (*cut off index*) obtenido por quimioluminiscencia.

Pasadas 6 horas post infusión intercurrió con progresión de su disnea, mayor desaturación, disminución de la PaFi (254 mm Hg) y fiebre, interpretándose como probable daño pulmonar agudo relacionado a transfusión (TRALI: *transfusion-related acute lung injury*), se administró oxigenoterapia por máscara

con reservorio y se decidió su traslado a la unidad de terapia intensiva (UTI). Luego de 24 horas post infusión del plasma se torna afebril, presentó mejoría de la disnea con aumento progresivo de la PaFi, mejoría radiológica, sin requerimiento de oxígeno a las 48 horas de estancia en UTI. Presentó además mejoría de los parámetros de laboratorio (ver Tabla 1B), y por todo ello egresó de UTI a sala general, donde continuó evolucionando favorablemente

Tabla 1B.

Fecha	28/06/20	29/06/20	02/07/20	06/07/20	09/07/20	12/07/20	13/07/20
Hematocrito (%)	29	34	32	36	43	40	38
Hemoglobina	9,6	10,8	10,9	11,5	13,1	12,9	12,3
Leucocitos /mm ³	3700	14200	17400	14100	10000	7900	6900
Neutrófilos /mm ³	2300	12700	1500	10300	7400	4800	3600
Linfocitos /mm ³	800	200	600	2000	1900	2000	2200
Plaquetas /mm ³	117000	130000	174000	206000	216000	177000	153000
Urea	70	85	124	134	139	139	133
Creatinina	2,75	2,8	2,48	2,67	2,82	3,25	3
GOT	19	22	18	16			29
GPT	26	22	39	42			104
Bilirrubina total	0,4	0,3	0,3	0,3			0,6
LDH	305	513	406				
Ferritina	2111		2535	2287			
TP	100	78	77	83	100		
APTT	29	36	30	30	24		
Fibrinógeno		494	300	227			
Dímero D		10586	1054	454			
Procalcitonina		15,5	4,1				
PCR	7,3	6,1	1,3				
Ácido láctico	19,8	14,7					
Ph arterial	7,49	7,42					
PO ₂ arterial	45,4	89					
P CO ₂ arterial	27	34,8					
HCO ₃ arterial	19,9	22					
PaFi	319	254	430	410	410	410	410
SOFA	3	4	2	2	2	3	2
Vasoactivos	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
IOT/ARM	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
Temperatura máx °C	39	38	36,5	36,5	36,5	36,5	36,5
Infusión de plasma c	200 ML*						

*Cantidad de plasma de convaleciente infundida el 28 de Junio de 2020

manteniendo controles de saturación de oxígeno entre 97 y 98% al 0.21%, así como resolución total de su disnea y ausencia de fiebre. Tras completar 10 días totales de tratamiento antibiótico, se realizó una nueva TC de tórax que evidenció marcada disminución de las consolidaciones pulmonares bilaterales, así como mejoría de las opacidades en vidrio esmerilado. El día 13 de julio, egresó, luego de mantenerse asintomático durante 4 días.

Discusión

El género beta coronavirus de la familia *coronaviridae* se encuentra compuesta por seis especies de virus capaces de generar infección en humanos, de éstos el SARS-CoV y MERS-CoV fueron causantes de brotes epidémicos de síndrome respiratorio agudo con elevada morbi-mortalidad en 2002 en China y en 2012 en Arabia Saudita.

A fines de diciembre de 2019 se reportaron 29 ca-

sos de neumonía atípica en pacientes relacionados al mercado de mariscos, pescados y animales vivos de Wuhan. Tan sólo doce días después se reveló al mundo la secuencia completa del genoma de un nuevo coronavirus, denominado SARS-COV-2 y se denominó a la enfermedad causada COVID-19. La transmisión de la infección se da por gotas respiratorias y contacto con superficies contaminadas, donde la viabilidad del virus se puede extender hasta por 72 horas⁽⁶⁾.

El coronavirus ingresa a las células humanas mediante el receptor ACE2 generando posteriormente destrucción local endotelial local, además de pérdida del control regulatorio en la secreción de citoquinas proinflamatorias tanto a nivel pulmonar como sistémico, fenómeno conocido como tormenta de citoquinas^(7,8). Al analizar una serie de autopsias efectuadas a pacientes fallecidos por COVID-19 se encontraron principalmente con tres hallazgos: daño endotelial severo con disrupción de membranas, microangiopatía trombótica capilar pulmonar y neo angiogénesis⁽⁹⁾.

El período de incubación promedia los 5 días, aunque puede durar entre 2 y 14 días. El 97.5% de los pacientes sintomáticos iniciarán dichos síntomas dentro de los 11 días del contacto⁽¹⁰⁾. El espectro de manifestaciones clínicas es amplio, el 80% de los pacientes presentan cuadros leves, el 15% cuadros graves y 5% son casos críticos con necesidad de ingreso a terapia intensiva y asistencia respiratoria mecánica. Los factores de riesgo relacionados con la evolución a formas graves de la enfermedad son: hipertensión arterial, enfermedad cardiovascular, diabetes, inmunocompromiso, enfermedad respiratoria crónica e insuficiencia renal crónica.

En una serie publicada en enero de 2020 acerca de las características clínicas de los pacientes internados con COVID-19 se observaron las siguientes manifestaciones clínicas en orden de frecuencia: fiebre (98%), tos (76%), disnea (55%), mialgias (44%), cefalea (38%) y tos productiva (28%)⁽¹¹⁾. Posteriormente se agregaron la anosmia y la disgeusia como síntomas relacionados a COVID-19. La tasa de mortalidad global publicada en distintas series oscila entre 0.5% y 4%. Por el momento los tratamientos evaluados no han demostrado beneficio significativo en términos de mortalidad, como en el caso de la hidroxiclороquina y el lopinavir asociado a ritonavir⁽¹²⁾. El tratamiento con remdesi-

vir requiere una mención especial, dado que en un ensayo aleatorizado y controlado con placebo, si bien no pudo demostrar diferencia estadísticamente significativa en disminución de mortalidad, sí logró mostrar una diferencia modesta en tiempo hasta la mejoría clínica⁽¹³⁾.

Respecto al tratamiento inmunomodulador, el estudio RECOVERY que evaluó el tratamiento con dexametasona 6 mg contra tratamiento estándar demostró disminución de la mortalidad en pacientes con necesidad de oxígeno suplementario o asistencia respiratoria mecánica⁽¹⁴⁾. En este contexto de escasas herramientas para el tratamiento específico de la enfermedad por COVID-19 es que se encuentra en el plasma de convaleciente una alternativa terapéutica prometedora, sobre todo por su evidencia en el uso de otras enfermedades virales por coronavirus como el MERS-CoV y, en nuestro país, para el tratamiento de la fiebre hemorrágica argentina⁽³⁻⁵⁾.

Hasta el momento de esta publicación se han publicado múltiples experiencias observacionales con el uso de plasma de convalecientes para el tratamiento de pacientes con COVID-19 severo o potencialmente fatal con resultados alentadores^(4,15).

La ausencia de estudios controlados que sustenten la efectividad del uso de plasma de convalecientes para tratamiento de la enfermedad por SARS-CoV-2 determina que no pueda ser una recomendación fuerte para el tratamiento de pacientes con cuadros moderados a severos^(4,15). La principal limitante es que el resultado de los estudios aleatorizados que se están realizando en todo el mundo probablemente sean publicados luego de un período prolongado de emergencia sanitaria.

Esta preocupación es común a todos los países del mundo y, en este contexto, Estados Unidos aprobó el programa de acceso expandido de plasma de convaleciente con enfermedad por SARS-CoV-2 liderado por la Clínica Mayo con el fin de asegurar disponibilidad para el tratamiento en pacientes con enfermedad moderada, severa o potencialmente mortal⁽¹⁶⁾. Los primeros resultados de seguridad sobre 5000 pacientes fueron publicados recientemente con resultados alentadores. Hubo un total de 36 eventos adversos, de los cuales 15 fueron muertes (sólo 4 pudieron ser vinculadas a la transfusión), 11 fueron injuria pulmonar aguda relacionada a la transfusión, 7 fueron sobrecarga de volumen relacionada a la transfusión y 3 reacciones alérgicas

severas. La mortalidad reportada a los 7 días en los pacientes de este estudio fue de 14.7%, el diseño observacional con ausencia de grupo control y el seguimiento a 7 días dificulta la interpretación de dichos resultados.

Existe por el momento un único ensayo clínico aleatorizado y controlado publicado sobre la efectividad del uso de plasma de convalecientes en pacientes con COVID-19 severo o amenazante para la vida⁽¹⁵⁾. El estudio fue realizado en Wuhan, tomando como desenlace principal el tiempo de mejoría clínica en un periodo de 28 días, definido como egreso hospitalario o mejoría en dos puntos en una escala ordinal de severidad de 0 a 6. Su principal limitante fue la notable reducción en el tiempo de los casos de COVID-19 en China, por lo que el estudio tuvo que detenerse tempranamente. Otras limitantes relevantes del estudio fueron el diseño abierto, un tiempo medio de inicio de síntomas hasta la aleatorización de treinta días y la disparidad en el uso de esteroides a favor del grupo tratamiento.

De todas maneras, se debe tener en cuenta que ese trabajo mostró beneficio significativo en tiempo a la mejoría clínica el subgrupo de pacientes con enfermedad severa con un HR de 2.15 (IC 1.07 - 4.32) y en la negativización de la PCR en todos los pacientes, llegando incluso a un OR de 11.39 a las 72 horas.

Respecto a nuestro paciente, la decisión fue especialmente compleja por tratarse de un paciente poli transfundido con mayor riesgo de presentar complicaciones relacionadas a la transfusión, pero, al mismo tiempo, alto riesgo de progresión por su estado de inmunocompromiso. Es difícil saber con certeza si la mejoría clínica fue secundaria a la transfusión, aunque la mejoría de los parámetros de inflamación y del patrón radiológico sustentan dicha hipótesis. Presentamos este caso por ser el primero de transfusión de plasma de convaleciente realizada en nuestro centro y por ser, además, en un paciente politransfundido con alto riesgo de complicaciones relacionadas al tratamiento.

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

References

1. Woo PC, Huang Y, Lau SK, Yuen KY. Coronavirus genomics and bioinformatics analysis. *Viruses*. 2010; 2(8): 1804-20.
2. W.H.O. (2020, 07,19). Situation reports. <https://www.who.int/emergencies/-diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports>.
3. Mair-Jenkins J, Saavedra-Campos M, Baillie JK et al. The Effectiveness of Convalescent Plasma and Hyperimmune Immunoglobulin for the Treatment of Severe Acute Respiratory Infections of Viral Etiology: A Systematic Review and Exploratory Meta-analysis. *J Infect Dis*. 2015; 211(1): 80-90.
4. Duan K, Liu B, Li C et al. Effectiveness of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020; 117(17): 9490-6.
5. Gárgano C, Piaz A. Fiebre hemorrágica Argentina. Conflictos y desafíos para la ciencia en el ámbito rural. *Asclepio*. 2017; 69: 178-84.
6. Doremalen N, Munster V et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med*. 2020; 382:1564-7.
7. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020; 181: 271-80.
8. Ye Q, Wang B, Mao J et al. The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19. *J Infect*. 2020; 80(6): 607-13.
9. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M et al. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med*. 2020; 383: 120-8.
10. Lauer SA, Grantz KH, Bi Q et al. The incubation period of coronavirus disease 2019 (COVID-19) from publicly reported confirmed cases: estimation and application. *Ann Intern Med* 2020 *Ann Intern Med*. 2020; 172(9): 577-82.
11. Huang C, Wang Y, Li X et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395(10223):497-506.
12. Cao B, Wang Y, Wen D et al. A Trial of Lopinavir-Ritonavir in Adults Hospitalized with Severe Covid-19. *N Engl J Med*. 2020; 382: 1787-99.
13. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 - Preliminary Report. *N Engl J Med*. 2020; NEJMoa2007764.
14. Horby P, Lim HS, Emberson JR et al. RECOVERY Collaborative Group. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19 - Preliminary Report. *N Engl J Med*. 2020;10.1056/NEJMoa2021436.
15. Li l, Zhang W, Hu Y et al. Effect of Convalescent Plasma Therapy on Time to Clinical Improvement in Patients With Severe and Life-threatening COVID-19. A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2020. e2010044. doi: 10.1001/jama.2020.10044.
16. Joyner M, Wright RS, Fairweather D et al. Early Safety Indicators of COVID-19 Convalescent Plasma in 5,000 Patients. *J Clin Invest*. 2020. <https://doi.org/10.1172/JCI140200>.



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.

Leucemia linfoblástica aguda pediátrica, evaluación de enfermedad mínima residual

Acute lymphoblastic leukemia, analysis of minimal residual disease

Soria M¹; Ferraro C¹; Morán L¹; Gutiérrez M¹; Prada S¹; Gaillard M²; Drelichman G¹

¹ Unidad de Hematología - Hospital de Niños "R. Gutiérrez". CABA. Argentina

² Servicio de Inmunología - Hospital de Niños "R. Gutiérrez". CABA. Argentina

marcela.e.soria@gmail.com

Fecha recepción: 11/8/2020
Fecha aprobación: 25/8/2020



PEDIATRÍA
ARTÍCULO
ORIGINAL

HEMATOLOGÍA
Volumen 24 n° 2: 80-90
Mayo - Agosto 2020

Palabras claves: enfermedad mínima residual, leucemia linfoblástica aguda, pediatría.

Keywords: minimal residual disease, acute lymphoblastic leukemia, pediatrics.

Resumen

La enfermedad mínima residual (EMR) demostró ser un factor pronóstico independiente de riesgo de recaída, permitiendo la adecuación del tratamiento según grupos de riesgo⁽¹⁾. Entre junio de 2010 y mayo de 2019 se evaluaron 137 pacientes (p) pediátricos con diagnóstico *de novo* de leucemia linfoblástica aguda (LLA), tratados de acuerdo al protocolo ALLIC BFM-GATLA 2010, incluyendo la EMR al día 15 para estratificar grupos de riesgo. El punto de corte utilizado para definir EMR al día 15 positiva fue 0.1 %. La EMR al día 15 > 0.1% (87 p, 63%) se asoció con recaídas, no así con SLE y SG. La EMR al día 33 > 0,05 (20 p) se asoció significativamente con riesgo, recaída, SG y SLE. La SG a 24 meses de pacientes EMR al día 33 (-)/al día 72 (-) fue 88%, EMR al día 33 (+)/al día 72 (-) 71% y EMR al día 33 (+)/al día 72 (+) 40% (p= 0.001). La SLE a 24 meses fue 89%, 61% y 40% (p= 0.000) para los mismos grupos de pacientes. La EMR al día 33 $\geq$ 0.05 fue la única variable independiente asociada a recaída (p= 0,02), *hazard risk* (HR) 4.1 (IC 95 1.72-10.055), lo que muestra que tener EMR + al día 33 aumenta 4 veces el riesgo de recaída.

Summary

Minimal residual disease (MRD) has proven to be an independent predictor for risk of relapse, allowing the adequacy of treatment according to risk groups. Between June 2010 and May 2019, 137 patients were evaluated with diagnosis of acute lymphoblastic leukemia treated using the ALLIC BFM-GATLA 2010 protocol. Evaluation at day 15 was used as indicator to stratify risk groups. The cut-off used for MRD on day 15 was 0.1%. Although MRD > 0.1% (87 patients, 63%) was associated with risk and relapse, neither overall survival (OS) nor disease-free survival (DFS) has shown a significance correlation. Moreover, MRD at day 33 > 0.05% (20 patients) was highly associated with risk, relapse, OS and DFS. OS at month 24 for MRD day 33 negative/day 72 negative was 88%, MRD at day 33 positive/at day 72 negative was 71% and MRD at day 33 positive/at day 72 positive was 40% (p= 0.001). DFS at month 24 for MRD at day 33 negative/at day 72 negative was 89%, MRD at day 33 positive/at day 72 negative was 61% and MRD at day 33 positive/at day 72 positive was 40% (p= 0.0001).

The MRD at day 33 with 0.05% or higher was the only that shows association with relapse (p 0.02), hazard risk 4,1 (IC 95 1.72-10.055) which suggests that MRD day 33 positive increases 4 times the risk of relapse.

Introducción

El monitoreo de enfermedad residual mínima (EMR) se ha convertido en un estudio de evaluación de respuesta al tratamiento en los pacientes con leucemia linfoblástica aguda (LLA) infantil. El diagnóstico de EMR demostró ser un factor pronóstico independiente, permitiendo la adecuación del tratamiento según grupos de riesgo⁽¹⁾, considerándose también como factor pronóstico en la sobrevida libre de eventos (SLE) y sobrevida global (SG) en niños con LLA. Evalúa la respuesta al tratamiento y permite estratificar a los pacientes, adecuando la intensidad del tratamiento y / o asignar pacientes a terapias complementarias a la quimioterapia, como el trasplante de células madre hematopoyéticas en primera remisión⁽²⁻⁶⁾.

Los protocolos contemporáneos incorporan el monitoreo de EMR como el principal criterio de estratificación para tratamiento adaptado al riesgo. Estudios recientes han demostrado que el tratamiento personalizado basado en EMR puede mejorar el resultado en niños con LLA⁽⁷⁻¹¹⁾. Existe fuerte correlación entre los niveles de EMR y el riesgo de recaída. Este concepto incluye la intensificación del tratamiento para niños con niveles más altos de EMR y disminución de la intensidad de tratamiento en niños con enfermedad mínima residual negativa.

La elección de la técnica de detección para evaluación de EMR depende del propósito clínico. Se ha discutido ampliamente que tanto la citometría de flujo como la reacción en cadena de polimerasa cuantitativa en tiempo real tienen requisitos específicos, ventajas, desventajas y concordancia de los resultados^(12,13,10).

En muchos protocolos pediátricos de LLA, los días 8 y 15 de la terapia de inducción son los primeros puntos de control para probar, *in vivo*, la sensibilidad individual del clon leucémico del paciente. La rápida reducción o eliminación del clon es altamente predictivo de mejor sobrevida libre de recaídas^(14, 17, 18, 19, 20).

El protocolo actual de la *Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica Berlin-Frankfurt-Münster* (AIEOP-BFM) ALL 2009 considera

alto riesgo (AR) a pacientes que tengan factores de AR, o día 15 $\geq 10\%$ por citometría de flujo o a la semana 12 $\geq 0.05\%$ por PCR, o LLA estirpe B al día 33 $\geq 0.05\%$ y semana 12 positivo $< 0.05\%$ por PCR⁽²⁰⁾. El grupo *Dutch Children's Oncology Group* (DCOG) ALL-10 considera AR a pacientes con factores de alto riesgo a día 33 $\geq 0.05\%$; a día 79 $\geq 0.05\%$ y muy alto riesgo a pacientes que no logran la remisión con más de 5% al día 29⁽²¹⁾. El *Children's Oncology Group* (COG) AALL 08B1 considera AR a pacientes sin factores desfavorables; a día 29 $\geq 0.01\%$ o a pacientes que eran riesgo estándar (NCI), sin factores desfavorables; a día 8 $\geq 1\%$; a día 29 $< 0.01\%$, o AR (NCI) a día 29 $< 0.01\%$ y muy alto riesgo a pacientes riesgo estándar o alto con factores desfavorables a día 29 $\geq 0.01\%$ ⁽²⁻⁴⁾.

Los pacientes analizados en este trabajo fueron tratados según el protocolo ALLIC GATLA 2010 y se estratifican según el mismo, incluyendo EMR al día 15 en médula ósea (MO). El objetivo de este trabajo es evaluar las características hematológicas y demográficas de pacientes pediátricos con LLA ingresados en este protocolo en la Unidad de Hematología del Hospital General de Niños R. Gutiérrez, SLE y SG de los mismos incluyendo EMR al día 15 y determinar asociación de EMR al día 33 con variables hematológicas y SLE/SG. Evaluar SLE/SG en tres grupos de pacientes: EMR al día 33 (-)/ al día 72 (-), al día 33 (+)/al día 72 (-) y al día 33 (+)/al día 72 (+).

Materiales y métodos

Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo en el período comprendido entre junio de 2010 y mayo de 2019. Ingresaron 165 pacientes con diagnóstico LLA de entre 1 y 18 años de edad tratados según protocolo ALLIC/BFM/GATLA 2010. Se realizó detección de EMR en MO por citometría de flujo de 6 colores (2010/2012) y 8 colores (2013/2019) con citómetro Facsanto II Becton Dickinson utilizando para LLAB los siguientes paneles:

Tubo 1: CD20FITC/ CD10PE/ CD34PerCPcy5,5/ CD38PEcy7/ CD45APC/ CD19APCH7.

Tubo 2: CD58FITC/ CD10PE/ CD34PerCPcy5,5/ CD38PEcy7/ CD45APC/ CD19APCH7.

Tubo 3: Syto/ CD123PE/ CD34PerCPcy5,5/ CD38PEcy7/ CD45APC/ CD19APCH7.

Tubo 1 (8 colores) CD20V450/ CD45V500/ Syto/ CD123CD66c/ CD34PerCPcy5,5/ CD19PEcy/ CD10APC/ CD38APCH7.

Para LLAT el panel utilizado fue:

Tubo 1: Syto/ CD3PE/ CD45Percp/ CD7APC.

Tubo 2: CD99FITC/ CD7PE/ CD5PerPcy5,5/ CD56PECy7/ CD45APC.

Tubo 3: CD8FITC/ CD4PE/ CD3PercP/CD45APC.

Tubo 4 :TDTFITC/ CD7PE/ CD3citPercP/ CD-3supAPC.

Tubo 1 (8 colores) CD3citV450/ CD45V500/ Syto/ CD99PE/ CD5Percpcy5.5/ CD56Pecy7/ CD7APC/ CD3supAPCH7.

Tubo 2 CD4V450/ CD45V500/ CD2FITC/ CD-10PE/ CD8Percpcy5.5/ CD56Pecy7/ CD7APC/ CD3supAPCH7

La adquisición de los datos se realizó con Facs-Diva6 (programa BD Biosciences). El análisis fue realizado con el programa INFINICYT 1.6 (Citognos). Se adquirieron entre 300.000 y 1.000.000 de eventos Syto+. Se consideró evaluable una muestra cuando el porcentaje de eritroblastos fue mayor o igual a 2% y se obtuvieron 30 eventos o más para la población patológica. El punto de corte para EMR positiva fue 0.1% o 1×10^{-3} al día 15 y mayor o igual a 0.05% a días 33 y 72.

Todos los pacientes fueron tratados según protocolo ALLIC GATLA 2010, ALLIC BFM 2009, aprobado por ANMAT, padres o tutores de los pacientes firmaron consentimiento informado, previo al inicio del tratamiento, acorde a normativas vigentes. Según el protocolo, se consideró riesgo estándar a pacientes menores de 6 años, recuento de glóbulos blancos al diagnóstico menor o igual $20.000/\text{mm}^3$, sin marcadores citogenéticos ni moleculares de alto riesgo, buena respuesta a prednisona BRP (menos de 1.000 blastos en sangre periférica al día 8 de tratamiento) y EMR en MO al día 15 $< 0.1\%$. Riesgo intermedio a pacientes que no son riesgo estándar ni alto. Riesgo alto a pacientes con mala respuesta a la prednisona o citogenético con hipodiploidía (< 44 cromosomas) o t(4;11) o MLL/AF4 (+) o pacientes que al día 15 de la inducción presenten EMR $\geq 10\%$ o al día 33 sin remisión completa.

El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS 22.0. El análisis univariado se realizó con T-test para variables continuas y con χ^2 o test de Fisher para variables categóricas. El análisis de supervivencia se estimó según el método de Kaplan Meier. El análisis multivariado se realizó por regresión múltiple. Se consideró estadísticamente significativa a valores de $p < 0.05$.

Resultados

Ingresaron 165 pacientes (p), entre 01/06/2010 y 31/05/2019, evaluables 137. Se excluyeron: 8 p Phi+, 4 p que fallecieron en inducción, 4 p derivados a otra institución y 12 p en los que no se puede evaluar EMR al día 15. La media de seguimiento fue 53.9 meses (rango: 4.6-110.5 meses), la media de edad al diagnóstico fue de 7 años (rango: 1.04-15.9 años). Fueron menores de 6 años 71 p (51.8%). Sexo femenino 51 p (37.2%), masculino 86 p (62.8%). El fenotipo más frecuente según clasificación EGIL II fue estirpe B (89.8%). Las características hematológicas de los pacientes se detallan en la tabla 1.

Los grupos de riesgo teniendo en cuenta todos los factores excepto EMR al día 15 fueron: riesgo estándar 40 p (29.2%), riesgo intermedio 63 p (46%) y riesgo alto 34 p (28.2%). Este protocolo es el primer protocolo pediátrico que estratifica a los pacientes en grupos de riesgo teniendo en cuenta la EMR al día 15, con lo que se observó una disminución en el número de pacientes con riesgo estándar, 17 p (12.4%), aumento en el riesgo intermedio, 82 p (59.9%) y en el riesgo alto 38 p (32.7%). La EMR al día 15 fue evaluable en 137 pacientes, siendo mayor a 0.1% en 85 p (62%) de los cuales 62 p (73%) presentan EMR entre 0.1-10% y 23 p (27%) EMR $> 10\%$, y menor a 0.1% en 52 p (38%). Recayeron 25 p (18.24%). En la asociación recaída con grupos de riesgo se observa que recaen 2 p de riesgo estándar (8% de los recaídos) ($p = 0.46$), 11 p (44%) de riesgo intermedio ($p = 0.074$) y 12 p (48%) de riesgo alto ($p = 0.012$), siendo significativa la asociación de riesgo alto con recaída (Tabla 2).

La EMR al día 33 fue evaluable en 128 p (93.14%), en este protocolo no se la utilizó para estratificar pacientes en grupos de riesgos. Consideramos como punto de corte al día 33 EMR 0.05%.

Asociación de variables hematológicas y demográficas con EMR al día 15 ($n = 137$)

Cuando se analiza EMR al día 15 y variables hematológicas se observa asociación entre EMR al día 15 con fenotipo pre B, riesgo y recaída (de los 25 p recaídos sólo 4 tenían EMR $< 0.1\%$ al día 15, $p = 0.019$).

No se observó diferencia estadísticamente significativa cuando se asoció EMR al día 15 con edad ($p = 0.49$), recuento de GB $< 20000/\text{mm}^3$ ($p = 0.12$), sexo ($p = 0.82$), fenotipo B común ($p = 0.72$), pro B ($p = 0.9$) y T ($p = 0.068$), respuesta al día 8 ($p = 0.13$). Fue

estadísticamente significativa la asociación de EMR al día 15 con riesgo estándar ($p=0.000$) y alto ($p=0.000$). No fue significativa cuando se asoció EMR al día 15 con riesgo intermedio ($p=0.73$). Se asoció EMR al día 15 con recaída; de 25 p recaídos, 21 p tuvieron $EMR \geq 0.1\%$ ($p=0.019$) (Tabla 3).

La SLE a 36 meses fue de 69% en pacientes con EMR (+) al día 15 y de 85 % en pacientes con EMR (-) al día 15 ($p=0.14$) (Figura 1). La SG a 36 meses en pacientes con EMR (+) al día 15 fue de 76% y en pacientes con EMR (-) de 90% ($p=0.121$) (Figura 2). La falta de asociación entre EMR al día 15 con SG y SLE podría deberse a que los pacientes se estratifican y adecúan el riesgo y tratamiento según la misma, lo cual hace que no se vean diferencias significativas en sobrevividas.

Asociación de variables hematológicas y demográficas con EMR al día 33 (n= 128)

La EMR al día 33 se asoció con recuento de GB al debut: de 20 p con EMR al día 33 $> 0.05\%$, 13 p tuvieron más de 20.000/mm³ leucocitos al debut ($p=0.000$). No se observaron diferencias estadísticamente significativas cuando se asoció con edad al diagnóstico ($p=0.68$) y sexo ($p=0.09$). Se asoció con fenotipo: de 20 p con EMR $> 0.05\%$, 8 p son B común ($p=0.001$), 2 p pre B, 3 p proB ($p=0.014$) y 8 p fenotipo T (de 14 pacientes LLA T) ($p=0.000$). Fue significativa la asociación con MLL/AF4, de 3 p positivos, 2 p tuvieron EMR $> 0.05\%$ al día 33 ($p=0.008$).

Se asoció EMR al día 33 con respuesta a prednisona: de 18 p que tuvieron mala respuesta (MRP), 6

Tabla 1. Características hematológicas de los pacientes n:137

	n	%
GB < 20000 mm³	96	70.1
Fenotipo		
B común	101	73.7
Pre B	19	13.9
Pro B	3	2.2
T	14	10.2
Citogenético (evaluables 115 p)		
Normales	65	47.4
Pseudodiploides	17	12.4
Hipodiploides	2	1.5
Hiperdiploides	32	28.4
Biología molecular (evaluables 128 p)		
MLL-AF4	3	2.2
RUNX1-ETV6	22	16.1
E2A-PBX1	6	4.4
SNC		
I	117	85.4
II	10	7.3
III	10	7.3
Respuesta a prednisona		
Buena respuesta	118	91.8
Recaída	25	18.2

Tabla 2. Asociación riesgo/recaídas

Riesgo	Recaída n: 25 (%)	p
Estándar 17 p	2 (8%)	0.46
Intermedio 82 p	11 (44%)	0.074
Alto 38 p	12 (48%)	0.012

presentaron EMR >0.05%, y de 110 p con buena respuesta (BRP), 14 tuvieron EMR >0.05% (p= 0.026). También hubo asociación con grupos de riesgo: ningún paciente riesgo estándar tuvo EMR >0.05% al día 33 (p= 0.05). De 75 pacientes con riesgo intermedio, 3 tuvieron EMR 0.05% y de 36 p con AR 17 p tuvieron EMR al día 33 >0.05%, (p= 0.0000). Recaen 25 pacientes y 15 de ellos tienen EMR >0.05% al día 33 (p 0.000).

Cuando se evalúa EMR al día 33, utilizando como punto de corte 0.05%, se observa que la SLE a 36 meses en pacientes con EMR (+) fue 43% y en pacientes con EMR (-) 81% (p= 0.00) (Figura 3). La SG a 36 meses fue 52% en pacientes con EMR (+) al día 33 y 87% en pacientes con EMR (-) al día 33 (p=0.000).

Cuando analizamos a los pacientes teniendo en

cuenta la EMR a días 33 y 72, podemos agruparlos en pacientes con: EMR al día 33 (-)/ al día 72 (-) (Grupo 1: 108 p), al día 33 (+)/al día 72 (-) (Grupo 2: 15 p) y al día 33 (+)/al día 72 (+) (Grupo 3: 5 p). De los 5 p positivos a días 33 y 72 fueron: 2 p fenotipo B (1,6% de todas las LLA B 123 p) y 3 fenotipo T (21.4% de todas las LLA T 14 p). Los 2 p con LLA B del grupo 3 amplificaron enfermedad y fallecieron; de los pacientes con LLA T, 2 están vivos en remisión completa (1 p post TMO relacionado) y un paciente recayó y falleció.

La SG a 24 meses de pacientes del grupo 1 fue 88%, grupo 2 71% y grupo 3 40% (p= 0.001). (Figura 5). La SLE a 24 meses fue 89%, 61% y 40% en los grupos 1, 2 y 3 (p= 0.000) (Figura 6).

El análisis multivariado fue realizado con modelo de regresión de Cox. Se buscó asociación de todas las

Tabla 3. Asociación de variables hematológicas con EMR a días 15 y 33 (n:137)

EMR (%) n: 137	D15 < 0.1 n: 137 (%)	D15 > 0.1 n: 137 (%)	p	D33 < 0.05 n: 128 (%)	D33 > 0.05 n: 128 (%)	p
Edad < 6a	24 (17.5)	47 (34.3)	0.49	54 (42.2)	9 (7)	0.68
Edad >6a	26 (19)	40 (29.2)		54 (42.2)	11 (8.6)	
GB < 20.000	39 (28.5)	57 (41.6)	0.12	81 (63.3)	7 (5.5)	0.000
GB > 20.000	11 (8)	30 (21.9)		27 (21.1)	13 (10.2)	
Sexo masculino	32(23.4)	54(39.4)	0.82	65(50.8)	16(12.5)	0.091
Fenotipo						
B común	36 (26.3)	65 (47.4)	0.72	84 (65.6)	8 (6.3)	0.001
Pre B	11 (8)	8 (5.8)	0.037	17 (13.3)	2 (1.6)	0.5
Pro B	1 (0.7)	2 (1.5)	0.9	1 (0.8)	2 (1.6)	0.014
T	2 (1.5)	12 (8.8)	0.068	6 (4.7)	8 (6.3)	0.000
Citogenético						
Hipodiploide	1 (0.9)	1 (0.9)	0.7	0.7	1 (0.9)	0.17
Hiperdiploide	10 (8.7)	22 (19.1)	0.39	0.39	5 (4.6)	0.72
Pseudodiploide	7 (6.1)	10 (8.7)	0.72	0.72	4 (3.7)	0.27
Eudiploide	26 (22.6)	39 (33.9)	0.51	0.51	7 (6.5)	0.11
B. molecular						
<i>MLL AF4</i>	1 (0.8)	2 (1.6)	0.88	1 (0.8)	2 (1.7)	0.008
<i>TEL AML1</i>	9 (7.1)	13 (10.2)	0.74	18 (15.1)	1 (0.8)	0.25
<i>E2A PBX1</i>	3 (7.5)	3 (7.5)	0.32	0 (0)	6 (15.4)	0.44
BRP	46 (33.6)	72 (52.6)	0.13	96 (76)	14 (10.2)	0.026
MRP	4 (2.9)	15 (10.9)		12 (9.4)	6 (4.4)	
Riesgo						
Estándar	17 (12.4)	0	0.000	17 (13.3)	0 (0)	0.05
Intermedio	29 (21.2)	53 (38.7)	0.73	72 (56.3)	3 (2.3)	0.000
Alto	5 (3.6)	33 (24.1)	0.000	19 (14.8)	17 (13.3)	0.000
Recaída	4 (2.9)	21 (15.3)	0.019	10 (7.8)	15 (10.9)	0.000

variables en estudio y riesgo de recaída, mostrando que la única variable independiente para predecir recaída fue tener EMR al día 33 ≥ 0.05 ($p = 0,02$) mostrando un HR de 4.1 (IC 95 1.72-10.055), por

lo tanto, tener EMR + al día 33 aumenta 4 veces el riesgo de recaída. Tener EMR al día 15 positiva no se asoció significativamente con recaída ($p = 0.147$), HR 0.42 (IC 95 0.133-1.35).

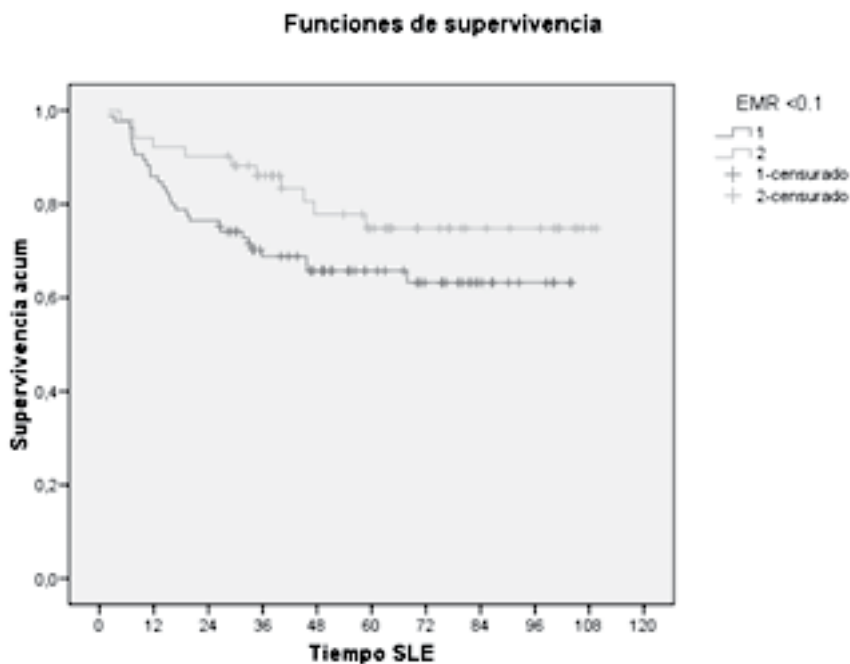


Figura 1. SLE estimación Kaplan Meier según EMR día 15. Línea verde (superior) corresponde a EMR < 0.1% y la línea azul (inferior) a EMR $\geq$ a 0.1%.

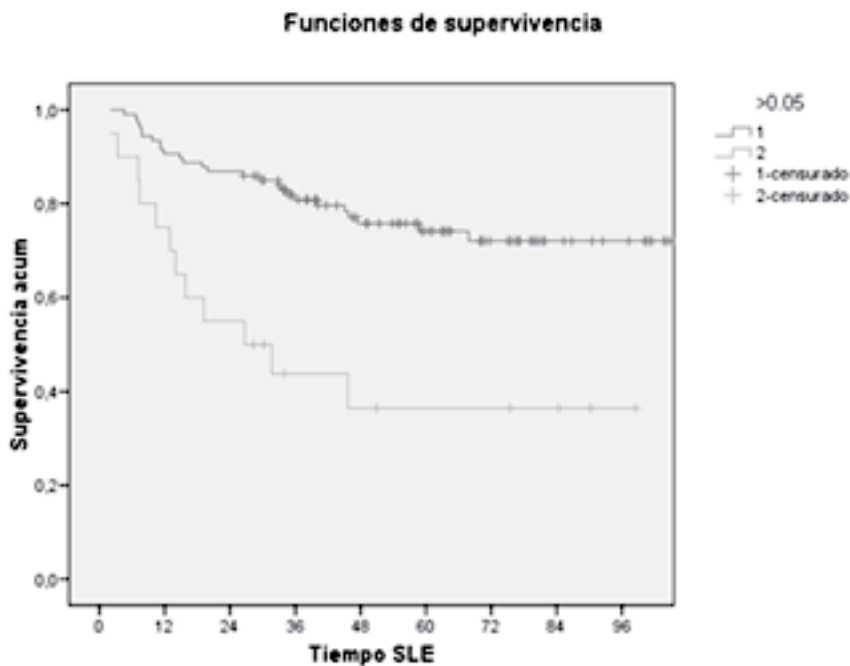


Figura 2. SG estimación Kaplan Meier según EMR día 15, la línea verde (superior) corresponde a EMR < 0.1% y la línea azul (inferior) a EMR $\geq$ a 0.1%.

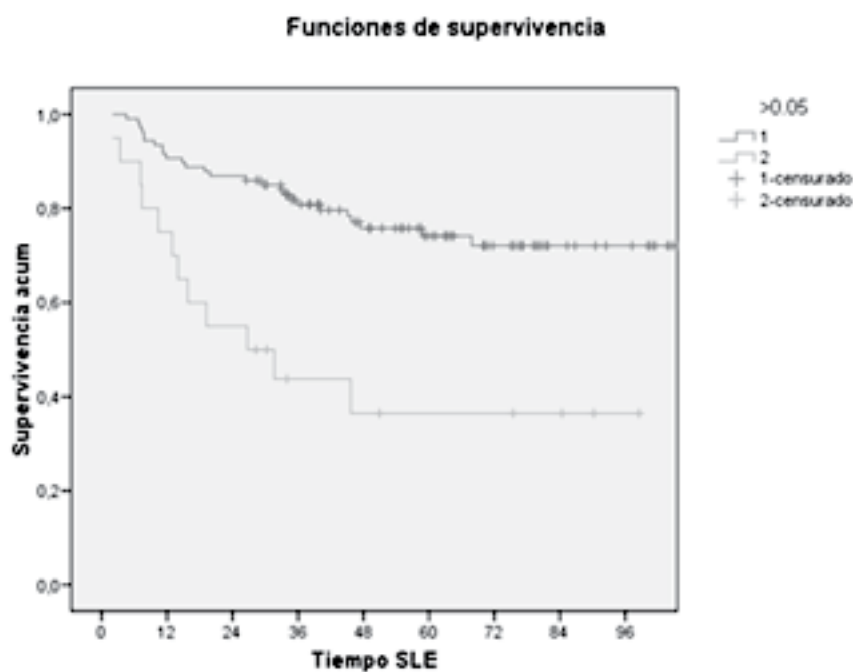


Figura 3. SLE estimación Kaplan Meier según EMR día 33. Línea verde (inferior) corresponde a $EMR < 0.05\%$ y la línea azul (superior) a $EMR \geq 0.05\%$.

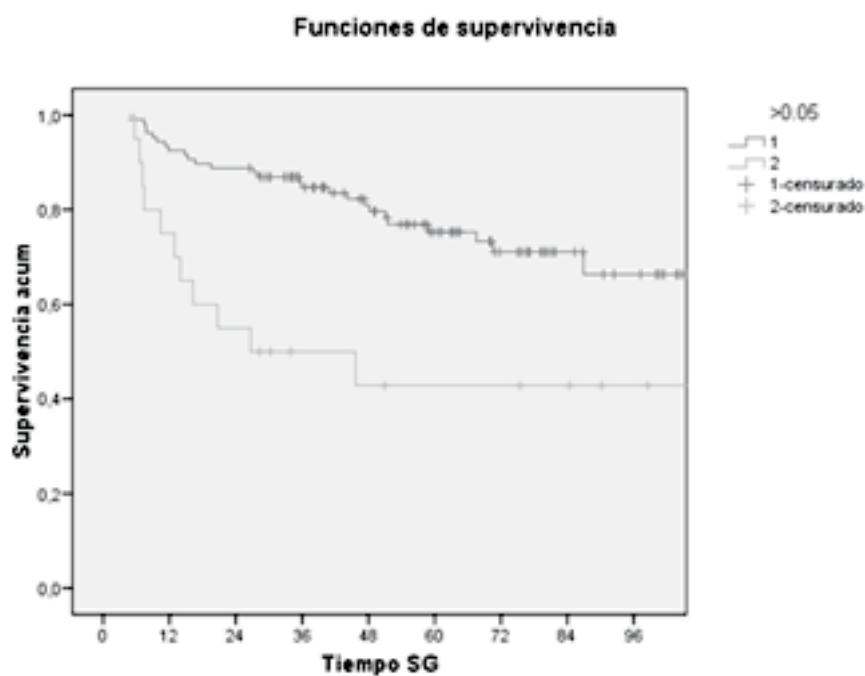


Figura 4. SG estimación Kaplan Meier según EMR día 33. Línea verde (inferior) corresponde a $EMR < 0.05\%$ y la línea azul (superior) a $EMR \geq 0.05\%$.

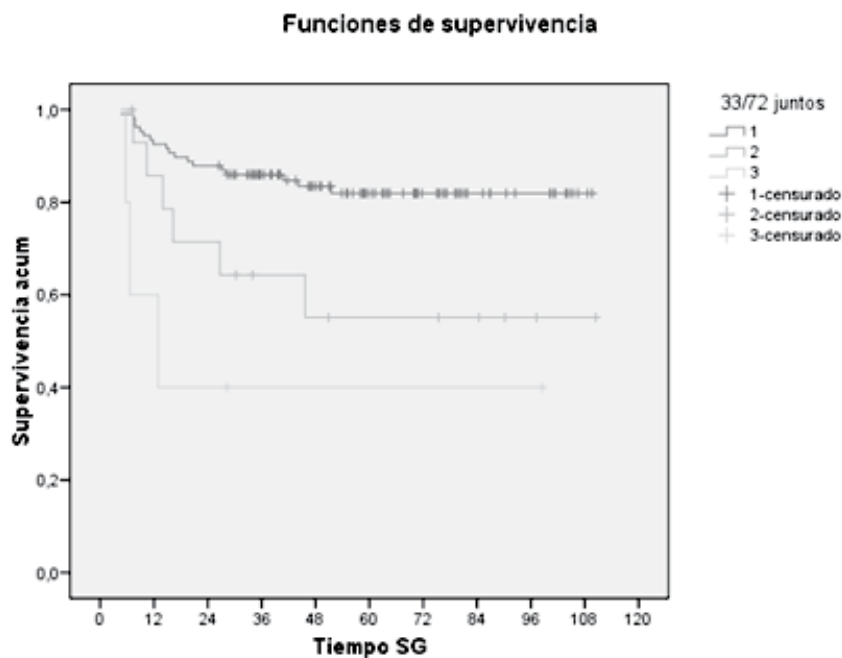


Figura 5. SG estimación Kaplan Meier según EMR a días 33 y 72. Línea azul (superior) corresponde a EMR al día 33-/al día 72-, línea verde (media) a EMR al día 33+/al día 72-, línea amarilla (inferior) a EMR al día 33+/al día 72+.

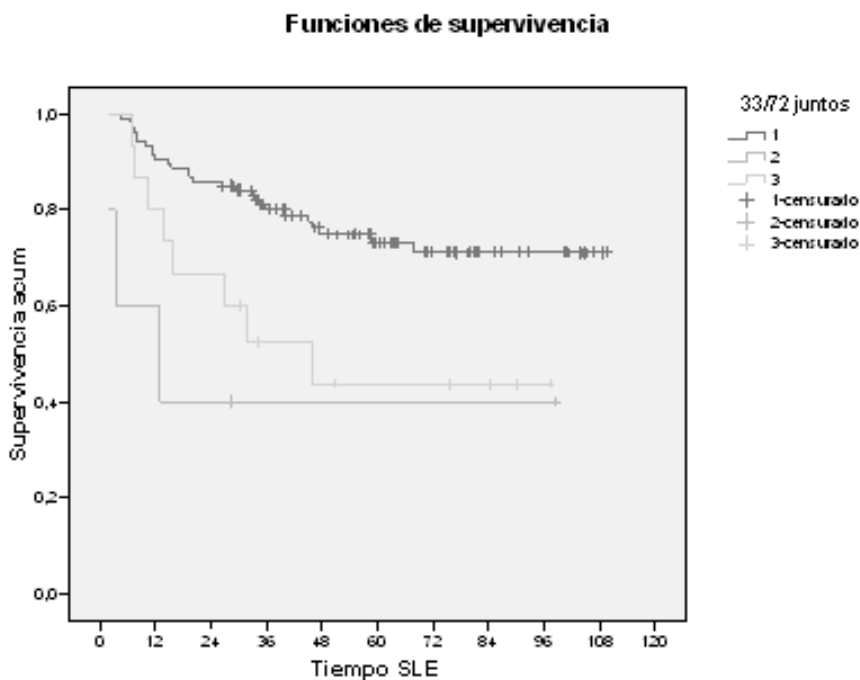


Figura 6. SLE estimación Kaplan Meier según EMR a días 33 y 72. Línea azul (superior) corresponde a EMR al día 33-/al día 72-, línea verde (inferior) a EMR al día 33+/al día 72-, línea amarilla (media) a EMR al día 33+/al día 72+.

Discusión

La importancia pronóstica de EMR en LLA pediátrica está bien establecida en numerosos estudios clínicos^(2, 22-26). Protocolos actuales de tratamiento recomiendan monitoreo de EMR en diferentes momentos para evaluar la efectividad de la quimioterapia. La medición de EMR en etapas tempranas (a día 15/19) y final de la inducción (a día 29/33) se considera el principal predictor del resultado del tratamiento y una herramienta fundamental para la estratificación de riesgos, dirigida tanto a la intensificación como a la reducción del mismo^(2, 21, 22, 27, 28, 29). Se encuentran, principalmente, dos diferencias entre LLA B y T: la primera es que la medición de EMR al final de la inducción (día 33) es más informativa en LLA B que en T, mientras que EMR a la semana 12 (o día 72) es más informativa en LLA T. La segunda es que los niveles de EMR se pueden correlacionar con el riesgo de recaída sistémica en LLA B, mientras que EMR en LLA T es predictivo de recaída sistémica y extramedular^(5,30). Estos resultados obtenidos por citometría de flujo cambiaron la definición del grupo de alto riesgo en pacientes tratados con protocolo AIEOP-BFM⁽²²⁾.

La estratificación por grupos de riesgo, incluyendo EMR fue similar a la estimada en el protocolo.

En el protocolo previo, ALLIC GATLA 2002, no se estratificaron a los pacientes teniendo en cuenta EMR al día 15, en ese protocolo se observó que la EMR positiva al día 15 se asoció con riesgo alto, mayor porcentaje recaída y menor SLE y SG. En el protocolo siguiente, ALLIC GATLA 2010 se uti-

lizó la EMR al día 15 para la estratificación de los pacientes en grupos de riesgo y observamos que la EMR al día 15 $> 0.1\%$ se asoció con recaída, no así con SLE y SG. Esto podría deberse a la adecuación del tratamiento según grupos de riesgo. Este protocolo no estratifica a los pacientes según EMR al día 33 y observamos que la EMR al día 33 $> 0,05\%$ se asoció significativamente con riesgos, recaída, SG y SLE. Esto muestra que sería importante incluir EMR al día 33 en protocolos futuros para estratificar a los pacientes, adecuando el tratamiento en pacientes que persistan positivos al día 33. El punto de corte al día 29 o 33 de la inducción varía según los distintos protocolos, considerando algunos grupos 0.01% y otros 0.05% . También se observó que el grupo de pacientes con EMR al día 33 (+)/al día 72 (+) son el grupo de mayor riesgo de recaída con peor SG y SLE.

En concordancia con lo publicado, este trabajo muestra que la EMR positiva al día 33 es una variable independiente para predecir recaída, aumentado 4 veces el riesgo de recaer. Será importante incluir en próximos protocolos la EMR a días 33 y 72 para estratificar a los pacientes e intensificar el tratamiento en el grupo que persiste con EMR positiva. El punto de corte para los días 33 y 72 varía según los distintos los grupos cooperativos. Una vez finalizado este protocolo será necesario incluir a todos pacientes que ingresaron al mismo y así tener un nuevo análisis con una muestra más grande, principalmente para evaluar el comportamiento del pequeño grupo de pacientes que persiste positivo a días 33 y 72.

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

References

1. van Dongen JJM, van der Velden VHJ, Brüggemann M & Orfao A. Minimal residual disease diagnostics in acute lymphoblastic leukemia: need for sensitive, fast, and standardized technologies. *Blood*. 2015;125:3996-4009.
2. Borowitz MJ et al. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia and its relationship to other prognostic factors: a Children's Oncology Group study. *Blood*. 2008;111:5477-5485.
3. Berry DA et al. Association of Minimal Residual Disease With Clinical Outcome in Pediatric and Adult Acute Lymphoblastic Leukemia: A Meta-analysis. *JAMA Oncol*. 2017;3: e170580.
4. Campana D & Pui CH. Minimal residual disease-guided therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2017;129:1913-1918.
5. Schrappe M et al. Late MRD response determines relapse risk overall and in subsets of childhood T-cell ALL: results of the AIEOP-BFM-ALL 2000 study. *Blood*. 2011;118:2077-2084.
6. Borowitz MJ et al. Prognostic significance of minimal residual disease in high risk B-ALL: a report from Children's Oncology Group study AALL0232. *Blood*. 2015;126:964-971.
7. Coustan-Smith E et al. A simplified flow cytometric assay identifies children with acute lymphoblastic leukemia who have a superior clinical outcome. *Blood*. 2006;108:97-102.
8. Campana D. Progress of minimal residual disease studies in childhood acute leukemia. *Curr Hematol Malig Rep*. 2010;5:169-176.
9. Schrappe M. Minimal residual disease: optimal methods, timing, and clinical relevance for an individual patient. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2012:137-142.
10. Campana D. Minimal residual disease monitoring in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Curr Opin Hematol*. 2012;19:313-318.
11. Gaipa G, Basso G, Biondi A & Campana D. Detection of minimal residual disease in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*. 2013;84:359-369.
12. Brüggemann M et al. Standardized MRD quantification in European ALL trials: proceedings of the Second International Symposium on MRD assessment in Kiel, Germany, 18-20 September 2008. *Leukemia*. 2010;24:521-535.
13. van der Velden VHJ et al. Analysis of minimal residual disease by Ig/TCR gene rearrangements: guidelines for interpretation of real-time quantitative PCR data. *Leukemia*. 2007;21:604-611.
14. Möricke et al. Risk-adjusted therapy of acute lymphoblastic leukemia can decrease treatment burden and improve survival: treatment results of 2169 unselected pediatric and adolescent patients enrolled in the trial ALL-BFM 95. *Blood*. 2008;111:4477-4489. *Blood*. 2009;113:4478-4478.
15. Lauten M et al. Prediction of outcome by early bone marrow response in childhood acute lymphoblastic leukemia treated in the ALL-BFM 95 trial: differential effects in precursor B-cell and T-cell leukemia. *Haematologica*. 2012;97:1048-1056.
16. Möricke A et al. Long-term results of five consecutive trials in childhood acute lymphoblastic leukemia performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 2000. *Leukemia*. 2010;24:265-284.
17. Gaynon PS et al. Long-term results of the children's cancer group studies for childhood acute lymphoblastic leukemia 1983-2002: A Children's Oncology Group Report. *Leukemia*. 2010;24:285-297.
18. Conter V et al. Long-term results of the Italian Association of Pediatric Hematology and Oncology (AIEOP) Studies 82, 87, 88, 91 and 95 for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 2010;24:255-264.
19. Fronkova E et al. Minimal residual disease (MRD) analysis in the non-MRD-based ALL IC-BFM 2002 protocol for childhood ALL: is it possible to avoid MRD testing? *Leukemia*. 2008;22:989-997.
20. Conter V et al. Molecular response to treatment redefines all prognostic factors in children and adolescents with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: results in 3184 patients of the AIEOP-BFM ALL 2000 study. *Blood*. 2010;115:3206-3214.
21. Pieters R et al. Successful Therapy Reduction and Intensification for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Based on Minimal Residual Disease Monitoring: Study ALL10 From the Dutch Childhood Oncology Group. *J Clin Oncol*. 2016;34:2591-2601.
22. Basso G et al. Risk of relapse of childhood acute lymphoblastic leukemia.

- phoblastic leukemia is predicted by flow cytometric measurement of residual disease on day 15 bone marrow. *J Clin Oncol*. 2009;27:5168-5174.
23. van Dongen JJ et al. Prognostic value of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukaemia in childhood. *Lancet*. 1998;352:1731-1738.
 24. Coustan-Smith E et al. Clinical importance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2000;6:2691-2696.
 25. Coustan-Smith E et al. Prognostic importance of measuring early clearance of leukemic cells by flow cytometry in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2002;100:52-58.
 26. Dworzak MN et al. Prognostic significance and modalities of flow cytometric minimal residual disease detection in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2002;99:1952-1958.
 27. Pui CH et al. Clinical utility of sequential minimal residual disease measurements in the context of risk-based therapy in childhood acute lymphoblastic leukaemia: a prospective study. *Lancet Oncol*. 2015;16:465-474.
 28. Stow P et al. Clinical significance of low levels of minimal residual disease at the end of remission induction therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2010;115:4657-4663.
 29. Pui CH et al. Clinical impact of minimal residual disease in children with different subtypes of acute lymphoblastic leukemia treated with Response-Adapted therapy. *Leukemia*. 2017;31:333-339.
 30. Schrappe M. Detection and management of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2014:244-249.



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.

Hemoglobina libre en plasma por espectrofotometría directa

Plasma free hemoglobin by direct spectrophotometry

Rosa C, Mereles S, Rigacci M, Colimodio D.

Laboratorio Central. Sector de Hematología. Hospital Universitario Austral. Pilar. Buenos Aires. Argentina.

crosa@cas.austral.edu.ar

Fecha recepción: 10/8/2020
Fecha aprobación: 15/8/2020



LABORATORIO

HEMATOLOGÍA
Volumen 24 n° 2: 91-96
Mayo - Agosto 2020

Palabras claves: Hemoglobina libre;
Hemólisis intravascular;
Espectrofotometría directa.

Keywords: Free hemoglobin;
Intravascular hemolysis;
Direct spectrophotometry.

Introducción

Normalmente la mayor parte de la hemoglobina (Hb) se encuentra dentro de los glóbulos rojos y sólo hay trazas en el plasma. Los eritrocitos senescentes sufren la lisis al final de su vida media de 110-120 días dentro de las células del sistema retículo-endotelial en el bazo, hígado y la médula ósea (hemólisis extravascular) y la Hb no se libera al plasma en cantidades apreciables. En una anemia hemolítica la vida útil de los glóbulos rojos, por definición, se acorta. En algunos tipos de anemia hemolítica el aumento de la hemólisis es predominantemente extravascular y la concentración de Hb plasmática apenas aumenta. Sin embargo en otros trastornos se produce un grado importante de hemólisis en el torrente sanguíneo (hemólisis intravascular); la Hb

plasmática aumenta sustancialmente, la mayor parte forma un complejo con la haptoglobina, que debido a su tamaño no es filtrado a nivel glomerular, es removido y degradado por el sistema retículo-endotelial, y en algunos casos la cantidad de Hb liberada puede ser suficiente para que se excrete en la orina (hemoglobinuria).

La prueba de Hb libre es un análisis de sangre que mide el nivel de Hb en el plasma, fuera de los eritrocitos. Esta determinación es esencial para diagnosticar y monitorear la hemólisis intravascular. Los métodos conocidos para medir la Hb son ensayos cromogénicos, espectrofotométricos directos, inmunofluorimétricos y ELISA. Se prefieren los ensayos cromogénicos para la detección de pequeñas cantidades de Hb. En este grupo encontramos el de pe-

roxidasa (Crosby-Furth), método de detergente hemático alcalino conocido como Tritón/NaOH, el derivado del Drabkin y el que utiliza tetrametilbencidina (TMB) descrito por Standefer-Vanderjagt. Sin embargo, el uso de bencidina y sus derivados ha sido restringido debido a su carcinogenicidad y/o toxicidad. Los ensayos espectrofotométricos directos que miden la absorbancia en múltiples longitudes de onda se han utilizado para determinar los niveles de Hb libre y así evitar el uso de sustancias químicas cancerígenas o tóxicas. Sin embargo, sus resultados podrían verse influenciados por la presencia de bilirrubina y turbidez. Numerosos autores han propuesto sus propias fórmulas para minimizar la interferencia analítica, con distintos resultados. Mencionamos los ensayos de espectrofotometría directa de Harboe, el de Noe, el de Blakney-Dinwoodie, el de Kahn, el método policromático y el polinomio empírico de Fairbanks y el de la segunda derivada de Merrick-Pardue. Algunos de los métodos mencionados han sido adaptados a los autoanalizadores de Química Clínica para fines de diagnóstico en laboratorios de rutina⁽¹⁾. Cabe destacar que no existe un método recomendado ni un kit estandarizado disponible en el mercado para los laboratorios clínicos que cuente con la aprobación de los organismos regulatorios. De esta forma, cada laboratorio adopta su propia técnica, adaptada de las descritas anteriormente y sujeta a limitaciones. Según el programa de evaluación externa de la calidad del *College of American Pathologists* (CAP), en el que participan más de 2000 laboratorios, sólo 92 participaron en la encuesta CAP 2018 para la prueba de Hb libre en plasma, lo que indica que no muchos laboratorios clínicos realizan el análisis de Hb libre, debido a las dificultades descritas anteriormente. A continuación describiremos el ensayo espectrofotométrico directo utilizado en nuestro laboratorio para medir Hb libre plasmática.

Fundamento

Este método espectrofotométrico directo para el dosaje de Hb libre plasmática denominado polinomio empírico, fue desarrollado por Fairbanks et al⁽²⁾ y está basado en la medida de la absorbancia en tres longitudes de onda en un espectrofotómetro UV/Vis. El cálculo de la concentración de hemoglobina libre se realiza con la siguiente ecuación:

$$\text{Hb libre} = \text{Factor}_1 \times \text{Abs}_{415} - \text{Factor}_2 \times \text{Abs}_{450} - \text{Factor}_3 \times \text{Abs}_{700}$$

En el primer término de la ecuación, la lectura de la absorbancia de la muestra a 415 nm corresponde a uno de los picos del espectro de absorción de la oxihemoglobina. Para minimizar la interferencia por la bilirrubinemia se le sustrae un término que incluye la absorbancia a 450 nm y para compensar por la turbidez se le sustrae otro término que incluye la absorbancia obtenida a 700 nm.

Características pre-analíticas

Como el propósito es analizar un marcador de hemólisis, cualquier factor que pueda aumentar la misma debe evitarse estrictamente. Se utiliza plasma obtenido a partir de sangre entera anticoagulada con EDTA. Debe respetarse un tiempo limitado de aplicación del torniquete. La muestra debe remitirse inmediatamente al laboratorio evitando el estrés durante el transporte, como por ejemplo en el tubo neumático sin el embalaje adecuado que minimiza los impactos violentos. Se centrifuga el tubo de muestra a 3500 rpm durante 10 minutos. El plasma debe separarse de las células dentro de los 60 minutos posteriores a la recolección y es estable durante 24 horas a temperatura ambiente o a 4° C. Las muestras deben rechazarse si no se separan dentro de las 2 horas posteriores a la recolección. Es muy importante descartar hemólisis por una extracción de sangre traumática que podría provocar una falsa elevación de la hemoglobina plasmática.

Características analíticas

Reactivos

- Solución madre: CO_3Na_2 1 g/dL. Estabilidad: 1 año a temperatura ambiente.
- Solución de trabajo: CO_3Na_2 10 mg/dL.

Equipamiento

- Espectrofotómetro Beckman DU® 520. Mide la absorbancia y la transmitancia en todo el rango UV-Vis (190 a 1100 nm +/- 1 nm). Ancho de banda espectral: <4.5 nm (Figura 1).

Procedimiento

Se prepara la solución de trabajo diluyendo 1/100 la solución madre, para obtener una concentración final de 10 mg/dL de CO_3Na_2 .

Dilución de la muestra: 1 parte de plasma + 10 partes de CO_3Na_2 : 500 µl de plasma en 5 ml de CO_3Na_2 10 mg/dL.



Figura 1. Espectrofotómetro UV/Vis.

Se enciende el espectrofotómetro y se deja estabilizar.

Leer la absorbancia en las siguientes longitudes de onda: 415, 450 y 700 nm, utilizando como blanco la solución de trabajo de CO_3Na_2 10 mg/dL.

Para el cálculo de la Hb libre medida se aplica la

$$\text{Hb libre medida (mg/dL)} = 155 \times \text{Abs}_{415} - 130 \times \text{Abs}_{450} - 124 \times \text{Abs}_{700}$$

siguiente fórmula:

La concentración de **Hb libre final** se obtiene a partir este dato de Hb libre medida, utilizando la ecuación de la recta obtenida en la calibración, como se explica a continuación.

Calibración

Para realizar la curva de calibración se utiliza un estándar comercial o, en su defecto, una muestra de sangre entera anticoagulada con EDTA de la corrida del día, con una concentración cercana a 10 g/dL, medida

en el contador hematológico Sysmex XN-1000. Se realizan 6 diluciones por duplicado.

A continuación mostramos un ejemplo para una concentración de Hb de 10 g/dL, que es igual a 10.000 mg/dL. Se toman 100 μL de sangre entera con EDTA y se diluyen en 10 ml de agua destilada (dilución 1/100).

A partir de esta solución de 100 mg/dL de Hb se realizan las diluciones seriadas como se muestra en la tabla 1.

Se procesan todas las diluciones por duplicado como muestras siguiendo el procedimiento descrito. Con las lecturas de las absorbancias se calculan las concentraciones de Hb libre medidas. Se grafica la concentración de Hb teórica de las diluciones vs la concentración de Hb libre medida. Por el método de regresión lineal se obtiene la ecuación de la recta que se utilizará para calcular la concentración final

Tabla 1. Diluciones seriadas para la calibración.

Tubo	Agua destilada (μL)	Dilución anterior (μL)	Concentración final de Hb (mg/dL)
1	-	-	100
2	500	500	50
3	500	500	25
4	500	500	12.5
5	500	500	6.25
6	500	500	3.12

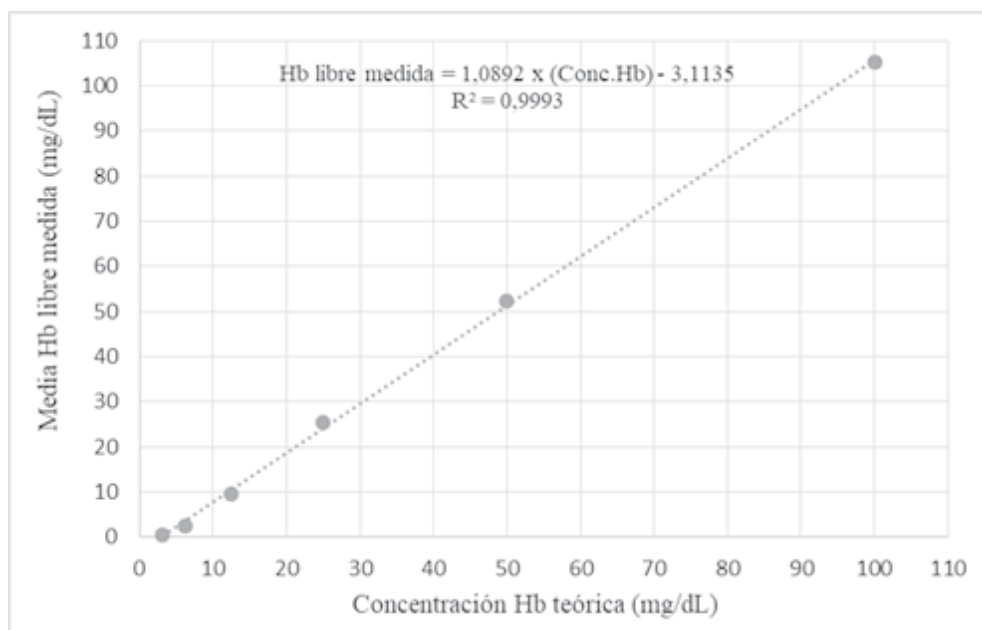


Figura 2. Ejemplo de curva de calibración para Hb libre en plasma.

de hemoglobina libre. En la figura 2 se muestra un ejemplo.

Para el cálculo de la concentración de Hb libre final se aplica la ecuación de la recta obtenida:

$$\text{Hb libre final (mg/dL)} = (\text{Hb libre medida} + 3.1135) / 1.0892$$

Control de calidad

En caso de no contar con controles comerciales se selecciona una muestra de sangre entera con EDTA con una concentración de 10 g/dL de Hb medida en el contador hematológico Sysmex XN-1000. A partir de esta muestra se realiza una dilución 1/500: 20 µl de sangre en 10 ml de agua destilada, para obtener una concentración final de 20 mg/dL (Control 1). A partir de este Control 1 de 20 mg/dL se realiza una dilución 1/4: 2 ml Control 1 + 6 ml de agua destilada, para obtener una concentración de 5 mg/dL (Control 2). Se hacen alícuotas de 1 ml de los controles y se conservan congeladas a -70°C. Se largan ambos controles en cada corrida.

En la tabla 2 se muestran los datos obtenidos en una corrida analítica en nuestro laboratorio.

Fairbanks et al determinaron el coeficiente de variación (CV) del ensayo a varias concentraciones de hemoglobina en muestras no ictericas ni lipemicas. Si bien el CV% es muy elevado para 1 mg/dL, la imprecisión es aceptable en el rango clínicamente relevante como podemos ver en la tabla 3.

Procesando una serie de muestras de plasma de donantes aparentemente sanos (n=56) los autores obtuvieron una media de 2.8 mg/dL con un desvío estándar (SD) de 2.2 mg/dL. La linealidad del ensayo

fue excelente en el rango de importancia clínica: 8-200 mg/dL.

Valores de referencia

Valor normal de Hb libre en plasma hasta 10 mg/dL. En pacientes con circulación extracorpórea se esperan valores de Hb libre menores a 50 mg/dL. Entre 50-100 mg/dL se consideran niveles de hemólisis moderados. Valores mayores a 100 mg/dL corresponden a hemólisis severa.

Utilidad clínica

El dosaje de Hb libre plasmática se utiliza para evaluar la anemia hemolítica. El exceso de Hb en plasma es un signo confiable de hemólisis intravascular sólo si la lisis no ha sido causada durante o después de la extracción de la sangre. También es necesario excluir la coloración del plasma que pueden ocasionar ciertos alimentos y aditivos alimentarios. El nivel plasmático de Hb aumenta drásticamente en las anemias hemolíticas de tipo intravascular, cuando la hemólisis es lo suficientemente grave y sobrepasa

Tabla 2. Datos obtenidos en una corrida analítica.

Dilución cali- brador/ control/ muestra	Abs 415 nm	Abs 450 nm	Abs 700 nm	Hb libre medida mg/dL	Media Hb libre medida mg/dL	Hb libre final mg/dL
100	0,795	0,120	0,020	105	105	99
100	0,789	0,115	0,018	105		
50	0,412	0,075	0,011	53	52	51
50	0,405	0,073	0,010	52		
25	0,215	0,045	0,010	26	25	26
25	0,205	0,044	0,012	25		
12,5	0,102	0,042	0,013	9	10	12
12,5	0,110	0,040	0,011	10		
6,25	0,050	0,030	0,016	2	3	5
6,25	0,060	0,035	0,012	3		
3,12	0,031	0,027	0,000	1	1	3
3,12	0,025	0,025	0,005	0		
Paciente ECMO 1	1,478	0,808	0,045	118		112
Paciente ECMO 2	0,297	0,060	0,020	36		36
Paciente ECMO 3	1,243	0,393	0,051	135		127
Paciente Normal 4	0,050	0,025	0,012	3		6
Control 2	0,045	0,028	0,012	2		5
Control 1	0,178	0,038	0,012	21		22

Tabla 3. Reproducibilidad del ensayo en muestras no ictericas ni lipémicas.

Concentración Hb (mg/dL)	1	4	9	15	50	100
CV (%)	90	14	5.3	3.1	1.6	1.3

la capacidad de transporte de la haptoglobina disponible. Por lo tanto se puede encontrar un aumento marcado de Hb libre, con o sin hemoglobinuria, en la hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN), hemoglobinuria paroxística por frío, síndrome de hemaglutinina fría, en las microangiopatías trombóticas como en la púrpura trombocitopénica trombótica y en otras anemias hemolíticas mecánicas, como por ejemplo, después de una cirugía cardíaca y en las hemólisis por prótesis de válvulas cardíacas. En las anemias hemolíticas de tipo autoinmunes con anticuerpos calientes, la anemia falciforme y la talasemia β severa, el nivel de Hb plasmática puede aumentar en forma leve o moderada, pero en la esferocitosis hereditaria, en la que la hemólisis ocurre predominantemente en el bazo, los niveles son normales o se puede observar un ligero aumento.

Niveles elevados también pueden encontrarse como resultado del ejercicio violento en una persona sin entrenamiento previo.

Los pacientes conectados a dispositivos mecánicos como la oxigenación por membrana extracorpórea (ECMO), la diálisis renal o la bomba de bypass cardíaco tienen riesgo de hemólisis. A pesar de las importantes mejoras tecnológicas observadas durante los últimos 20 años, la hemólisis asociada al ECMO sigue siendo una complicación que puede surgir durante la terapia. La gravedad de la hemólisis es directamente evaluada por la Hb libre y puede ser desde tolerable hasta altamente tóxica. Los niveles altos de Hb libre tienen consecuencias directas en la morbilidad y mortalidad, especialmente por la injuria renal. La hemólisis severa 24 horas después del inicio de la terapia es un predictor independiente de

mortalidad. Los niveles de Hb libre se asocian con insuficiencia renal aguda y muerte. Las circunstancias que conducen a hemólisis severa principalmente asociadas con trombosis en la bomba principal y flujo inadecuado, deben ser conocidas y anticipadas. Considerando la ausencia actual de tratamiento específico ante eventos de hemólisis severa, la medición de la Hb libre tiene un papel importante⁽³⁾. Por otra parte, los ensayos cromogénicos de anti-Xa para la monitorización de la actividad de la heparina no fraccionada que se utilizan en ECMO son susceptibles a la interferencia por la hemólisis y la ictericia. La hemólisis da como resultado un falso

aumento en la pendiente del cambio de absorbancia en el ensayo de actividad, que da como resultado una heparinemia falsamente más baja. El fabricante del reactivo de anti-Xa reporta en el inserto el umbral de interferencia de la Hb y es importante poder medir la concentración de la misma presente en las muestras de los pacientes, para saber si el resultado está afectado o no por la interferencia⁽⁴⁾. También se ha observado un aumento de la Hb libre en pacientes con sepsis grave y los métodos espectrofotométricos demostraron ser apropiados para la predicción de muerte en sepsis severa⁽⁵⁾.

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

Bibliografía

1. Chung H-J, Chung J-W, Yi J et al. Automation of Harboe method for the measurement of plasma free hemoglobin. *J Clin Lab Anal.* 2020; 34:e23242. <https://doi.org/10.1002/jcla.23242>.
2. Fairbanks VF, Ziesmer SC, O'Brien PC. Methods for measuring plasma hemoglobin in micromolar concentration compared. *Clin Chem.* 1992; 38/1:132-40.
3. Dufour N, Radjou A, Thuong M. Hemolysis and Plasma Free Hemoglobin During Extracorporeal Membrane Oxygenation Support: From Clinical Implications to Laboratory Details. *ASAIO Journal.* March 2020;66(3):239-246. doi: 10.1097/MAT.0000000000000974
4. Khan J, Chandler WL. Interference in the anti-Xa heparin activity assay due to hemolysis and icterus during pediatric extracorporeal life support. *Artif Organs.* 2019;43:880-887. <https://doi.org/10.1111/aor.13467>.
5. Adamzik et al. Free hemoglobin concentration in severe sepsis: methods of measurement and prediction of outcome. *Crit Care.* 2012;16(4):R125. Published 2012 Jul 16.



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.

Inclusiones pseudo bastones de Auer en células plasmáticas de un mieloma múltiple IgG kappa

Auer rod-like inclusions in IgG kappa multiple myeloma cells

Oliveros K, Rivarola S, Sernaque C, Quarchioni M, Avila J, Flegler N, Ceresetto J, Shanley C, Palmer S, Rabinovich O, Stemmelin G.

Servicio de Hematología. Hospital Británico de Buenos Aires, Argentina.

oliveros.md@gmail.com

Fecha recepción: 14/7/2020

Fecha aprobación: 10/8/2020



IMÁGENES
EN HEMATOLOGÍA

HEMATOLOGÍA

Volumen 24 n° 2: 97-100

Mayo - Agosto 2020

Palabras claves: inclusiones pseudo bastones de Auer, mieloma múltiple, células plasmáticas.

Keywords: Auer rod-like inclusions, multiple myeloma, plasma cells.

Resumen

Las inclusiones pseudo bastones de Auer en el citoplasma de células plasmáticas son un hallazgo morfológico muy poco frecuente. Se observan mayormente en mieloma múltiple de tipo IgG kappa, como en el presente caso. Su significado pronóstico aún no ha sido determinado.

Abstract

Auer rod-like inclusions in plasma cells cytoplasm is a very infrequent morphologic finding. They are mainly observed in IgG kappa multiple myeloma, as in the present case. Their prognostic relevance is still unknown.

Caso clínico

Varón de 71 años derivado por síndrome de impregnación de aproximadamente un año de evolución asociado en los últimos meses a anemia leve (hematocrito 35%, Hb: 11g/dl) y falla renal AKIN I (creatinina 1,40 mg/dl, Dep. Cr.: 44 ml/min). Proteínas

séricas de 9,4 g/dl, LDH normal, β_2 microglobulina: 3,7 mg/dl y banda monoclonal gamma de 1,6 g/dl. IgG 2.130 mg/dl (máximo normal: 1.822 mg/dl) con IgA e IgM normales. La tomografía computada de baja densidad no detectó lesiones líticas. Por punción y biopsia de médula ósea (MO) se observó infiltración de aproximadamente 60% por células plasmáticas (CP) de aspecto pleomórfico y multinucleadas (imagen 1). La mayoría con inclusiones azurófilas en su citoplasma en forma de agujas/bastón muy similares a los bastones de Auer observados en las leucemias promielocíticas (LPM) (imagen 2 y 3). En suero presentaba cadenas kappa (κ) libres de 4.699,08 mg/dl (máximo normal: 19,90 mg/dl), cadenas lambda (λ) 13,78 mg/dl y relación κ/λ de 341 (máximo normal: 1,65). En orina el valor de cadenas κ libres fue de 19.829,76 mg/dl y λ de 20,26 mg/dl. La citometría de flujo informó 18% de plasmocitos clonales. Se diagnosticó un MM IgG κ . Hasta el momento no contamos con los resultados de citogenético ni de FISH.

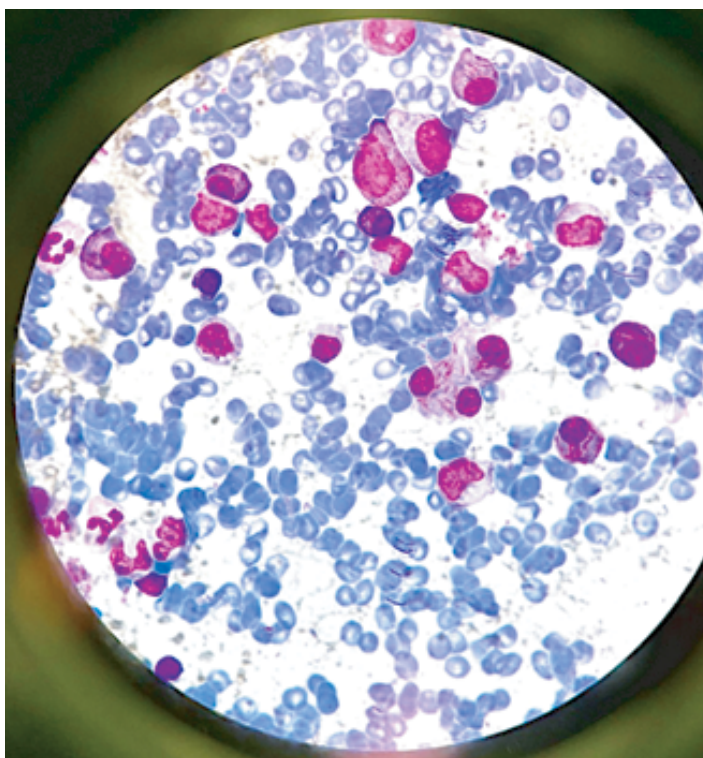


Figura 1.

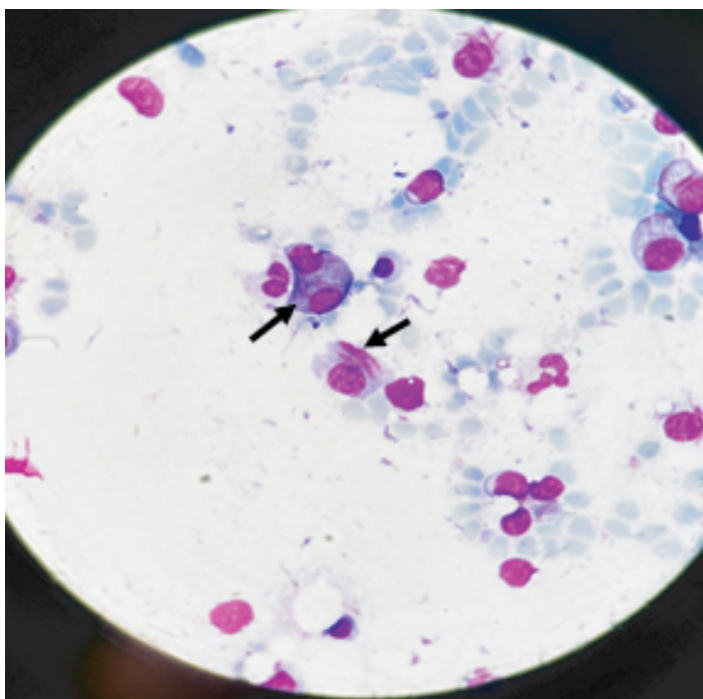


Figura 2.

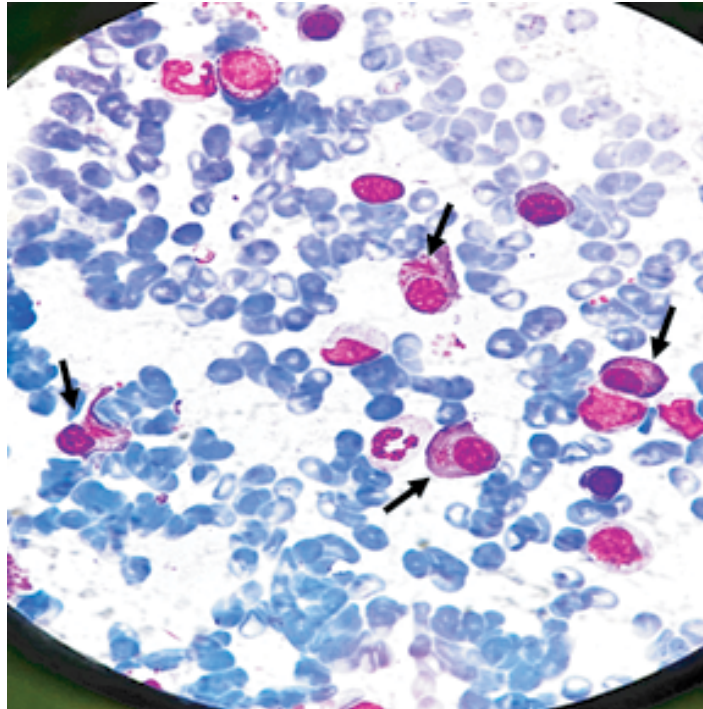


Figura 3.

Discusión

Alteraciones en la morfología de las CP pueden ocurrir tanto a nivel del núcleo (cuerpos de Dutcher) como en su citoplasma. Las inclusiones cristalinas con forma de aguja/bastón conocidas como pseudo bastones de Auer por su similitud con aquéllas encontradas en las LPM son poco frecuentes⁽¹⁾. Fueron descritas por primera vez por Steinmann en 1940, y desde entonces se han reportado nuevos casos, aunque continúan siendo muy raros de observar.

No existen datos claros que expliquen la naturaleza de las inclusiones pseudo bastones de Auer. Se cree que se deben a mutaciones somáticas en las CP que generan un incremento en la producción de Ig e impiden su proteólisis habitual, con la consecuente acumulación en el citoplasma. A diferencia de otras inclusiones citoplasmáticas, no tienen relación con el retículo endoplásmico, y no son positivas con anticuerpos contra Ig en las tinciones inmunocitológicas. En el 2003 se identificó la presencia de

N-esterasa, fosfatasa ácida y B-glucoronidasa en estas inclusiones, indicando su posible origen lisosomal⁽²⁾. Se diferencian así de los bastones de Auer de los promielocitos en las LPM, que contienen mieloperoxidasa o cloro acetato de esterasa en su interior⁽³⁾.

Según los escasos reportes, la cadena liviana kappa es la mayormente afectada, sola o acompañada tanto de IgA, IgG o IgM⁽⁴⁾.

En conclusión, las inclusiones citoplasmáticas pseudo bastones de Auer son hallazgos muy poco frecuentes en casos de mieloma múltiple. En nuestro paciente hasta el momento no tenemos el resultado de inmunohistoquímica. Sin embargo los datos de citometría, inmunofijación, y la morfología de las CP halladas en el medulograma son evidencia clara de un MM IgG kappa, el mismo que guarda mayor relación con la presencia de estas inclusiones tan peculiares.

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

Bibliografía

1. Noujaim JC, D'Angelo G. Auer rod-like inclusions in light chain myeloma. *Blood*. 2013;122(17):2932.
2. Metzgeroth G, Back W, Maywald O, Schatz M, Willer A, Hehlmann R & Hastka J. Auer rod-like inclusions in multiple myeloma. *Annals of Hematology*. 2003;82:57-60.
3. Adbulsalam AH, Bain BJ. Auer-rod like inclusions in multiple myeloma. *Am J Hematol*. 2014;89:338.
4. Hütter G, Nowak I, Blau W, Thiel E. Auer rod-like intracytoplasmic inclusions in multiple myeloma. A case report and review of the literature. *Int J Lab Hematol*. 2009;31:236-40.



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.



Información importante acerca de Warfarina en Argentina.

A todos los profesionales de la salud:

Desde el **Laboratorio Ariston** queremos informarles que garantizamos el abastecimiento y producción de Warfarina (Circuvit), y que se encuentra disponible para cubrir todos los tratamientos actuales y futuros en la República Argentina.

Hoy somos el único elaborador de esta medicación que contribuye al cuidado de la salud de miles de pacientes argentinos.

Laboratorio Ariston, una compañía farmacéutica nacional con presente y futuro en la Hematología Argentina.

circuvit

WARFARINA SÓDICA 2 mg - 5 mg

Circuvit 2 mg x 20/50 comp. | Circuvit 5 mg x 20/50 comp.

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 Ftir 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 anatómo-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

POMALID[®]

Pomalidomida / Cápsulas 1, 2, 3 y 4 mg

LA **OPCIÓN TERAPÉUTICA** PARA EL PACIENTE CON **MIELOMA MÚLTIPLE RECAÍDO/REFRACTARIO***



EL POTENCIAL DE CAMBIAR EL CURSO DE LA ENFERMEDAD Y MEJORAR A LOS PACIENTES¹

POMALID[®]
(pomalidomida)
es un potente agente
inmunomodulador de la tercera
generación, con actividad
anti-mieloma que puede
superar la resistencia a la
lenalidomida^{2,3}

POMALID[®]
(pomalidomida)
mejora la supervivencia libre
de progresión y la supervivencia
global^{4,5}

La combinación de
pomalidomida + dexametasona
en bajas dosis tiene un
impacto positivo en la calidad
de vida de los pacientes, y ofrece
un alivio sintomático sostenido
en pacientes con mieloma múltiple
refractario o en recaída
fuertemente pretratados⁶



*Prospecto POMALID[®] Gador S.A. Fecha última revisión ANMAT: Feb. 2017

1. Dimopoulos MA et al. Expert panel consensus statement on the optimal use of pomalidomide in relapsed and refractory multiple myeloma. *Leukemia* 2014; 28:1573-1585. 2. Richardson P et al. Pomalidomide: New immunomodulatory agent with potent antiproliferative effects. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2013; 88:S36-S44. 3. Fouquet G et al. Pomalidomide for multiple myeloma. *Expert Rev Hematol* 2014; 3(9):613-618. 4. San Miguel J et al. Pomalidomide plus low-dose dexamethasone versus high-dose dexamethasone alone for patients with relapsed and refractory multiple myeloma (MM-003): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013; 14:1055-66. 5. Dimopoulos M et al. Cytogenetics and long-term survival in patients with refractory or relapsed and refractory multiple myeloma treated with pomalidomide and low-dose dexamethasone. *Hematologica* 2015; 100(10):1327-1333. 6. Weisel K et al. Pomalidomide and low-dose dexamethasone improves health-related quality of life and prolongs time to worsening in relapsed/refractory patients with multiple myeloma enrolled in the MM-003 randomized phase III trial. *Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia* 2015; 15(8):519-30.

En concordancia con los programas estratégicos de seguridad implementados internacionalmente, tendientes a minimizar los riesgos potenciales de un medicamento preservando sus beneficios terapéuticos, GADOR S.A. ha desarrollado un Plan de Gestión de Riesgos (PGR) para POMALID[®] (Pomalidomida), refinanciado por ANMAT. Dicho plan tiene como objetivo identificar, caracterizar, prevenir o minimizar los riesgos relacionados con el uso de POMALID[®] (Pomalidomida), especialmente los riesgos asociados al empleo del producto durante el embarazo, y comunicar esos riesgos a los profesionales de la salud. Para mayor información sobre el PGR de POMALID[®] por favor consulte el siguiente link www.gador.com.ar/farmacovigilancia o comuníquese al 0-800-220-2273 (CARE).

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 Ftirre 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

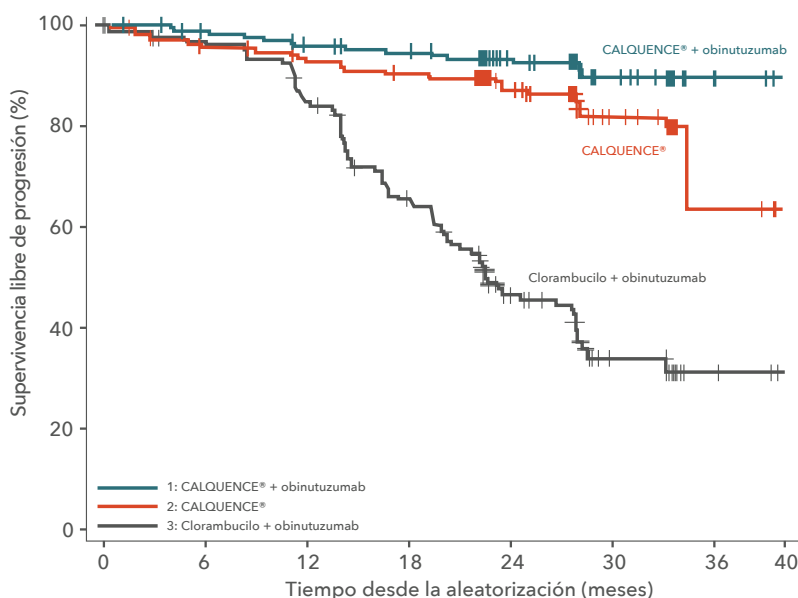
CALQUENCE®

(acalabrutinib) cápsulas de 100 mg

LA FUERZA PARA ALCANZAR EL OBJETIVO

**NUEVA
INDICACIÓN**
ahora aprobado
para LLC

SLP sin precedentes: reducción del riesgo del 90% en la progresión de la enfermedad o muerte con CALQUENCE® + G frente a GClb^{1†}



Cantidad en riesgo

1: CALQUENCE® + obinutuzumab	179	176	170	168	163	160	159	155	109	104	46	41	4	2
2: CALQUENCE®	179	166	161	157	153	150	148	147	103	94	43	40	4	3
3: Clorambucilo + obinutuzumab	177	162	157	151	136	113	102	86	46	41	13	13	3	2

90%

CALQUENCE® + OBINUTUZUMAB:
**DISMINUCIÓN DEL RIESGO DE
PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD O MUERTE**
en la rama Calquence® más Obinutuzumab
HR= 0,10 (95% CI: 0,06; 0,17); p<0,0001

80%

CALQUENCE MONOTERAPIA:
**DISMINUCIÓN DEL RIESGO DE
PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD O MUERTE**
en la rama Calquence® monoterapia
HR= 0,20 (95% CI: 0,13-0,30); p<0,0001

Los beneficios de SLP en la rama de Calquence® con o sin obinutuzumab fueron consistentes en los siguientes subgrupos: <65 y >65 años, pacientes con y sin delección 17p, pacientes con y sin mutación TP53, pacientes con y sin delección 11q, pacientes con IGVH no mutada, pacientes con o sin enfermedad avanzada (RAI estadios 0-II y estadios III-IV), y pacientes con y sin linfadenopatías voluminosas (5 cm y ≥ 5cm).

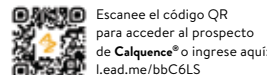
Al momento del análisis, el número de eventos de progresión de la enfermedad o muerte fue de 14 (8%) para CALQUENCE® + G, 26 (15%) para CALQUENCE y 93 (53%) para GClb.

La NCCN recomienda acalabrutinib +/- obinutuzumab como una opción de preferencia en tratamiento de primera línea para pacientes con LLC, incluidos aquellos con delección 17p y mutación TP53

G: obinutuzumab; GClb: clorambucilo + obinutuzumab.

[†]La eficacia y seguridad de Calquence® en pacientes con LLC previamente no tratados fue evaluada en un estudio Fase III abierto, aleatorizado, multicéntrico (ELEVATE-TN) que incluyó 535 pacientes. Los pacientes fueron aleatorizados a recibir Calquence® + obinutuzumab, Calquence® monoterapia o obinutuzumab + clorambucilo.

1. CALQUENCE® Product Monograph. AstraZeneca Canada Inc. November 28, 2019.



Escanee el código QR para acceder al prospecto de Calquence® o ingrese aquí: lead.me/bbC6LS

Si usted tiene alguna consulta sobre nuestros productos o requiere reportar algún efecto adverso, comuníquese al: **0800 333 1247**

Describirse: <http://uqr.to/opt-out-ar>. Aviso de Privacidad: <http://uqr.to/aviso-privacidad>. Reportes de eventos adversos: <http://uqr.to/ae-argentina>. Material Promocional para uso exclusivo Profesionales de la Salud





ENFERMEDAD DE

Gaucher

LA OPCIÓN
ADECUADA
PARA CADA
PACIENTE

1 MÁS DE
SOLUCIÓN
TERAPÉUTICA

2 **TERAPIAS**
DE PRIMERA LÍNEA

MÁS DE
30 **AÑOS**
ACOMPAÑANDO
A LA COMUNIDAD
GAUCHER


Cerezyme®
imiglucerasa


Cerdelga®
eliglustat



CEREZYME



CERDELGA

Dirigido a médicos y/o profesionales de la salud.

Para visualizar los prospectos aprobados escanee los
siguientes códigos

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.GD.20.04.0105 - ABR20

SANOFI GENZYME 