

ISSN 0329-0379

ISSN 2250-8309

HEMATOLOGIA

NÚMERO EDUCACIONAL

XXIV CONGRESO ARGENTINO DE HEMATOLOGÍA

IV Simposio Educacional Conjunto EHA - SAH
I Highlights of Past EHA (HOPE) Latin America
X Congreso del Grupo Rioplatense de Citometría de Flujo



2019

DEL 2 AL 5 DE OCTUBRE

MENDOZA - Argentina
Hotel Intercontinental

VOLUMEN 23
Número Extraordinario
SEPTIEMBRE 2019



Sociedad Argentina
de Hematología

ARGENTINA
C.A.B.A.



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

Información del producto
disponible en el código QR



Uruguay 3698 (B1643E2), Béccar
Buenos Aires, Argentina.
Tel.: +5411 4723-2830
www.varifarma.com.ar
farmacovigilancia@varifarma.com.ar

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)

ISSN: 0329-0379 (versión impresa)

ISSN: 2250-8309 (versión en línea)



Comisión Directiva

Presidente: Dra. Dorotea Fantl **Vice-Presidente:** Dr. Germán Stemmelin

Secretario: Dra. Cecilia Foncuberta **Tesorero:** Dr. Patricio Duarte

Dr. José Ceresetto, Hospital Británico, CABA

Director

Dra. Cristina Duboscq, Hospital Británico, CABA

Secretaria de Redacción

Comité Editor

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

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

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

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

Guanchiale, Luciana - Hospital Privado Universitario de Córdoba, 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

Di Ciccio, Éliida
Hospital Central de San Isidro,
Bs. As., Argentina

Dibar, Eduardo
Hospital Italiano, CABA, Argentina

Di Ghiero, Guillermo
Inst. Pasteur de Montevideo, Uruguay

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

Dupont, Juan
CEMIC - CABA, Argentina

Erramouspe, Beatriz
Hospital César Milstein,
CABA, Argentina

Feldman, Leonardo
Fund. Favaloro, CABA, Argentina

Feliu Torres, Aurora
Hospital Garrahan, CABA, Argentina

Fernández, Isolda
FUNDALEU. CABA. Argentina.

Flores, Gabriela
Hospital Durand, CABA, Argentina.

Foncuberta Cecilia
Instituto Alexander Fleming,
CABA, Argentina

Fondevila, Carlos
Sanatorio Bazterrica, CABA, Argentina

Forastiero, Ricardo
Fund. Favaloro - S. Anchorena.
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

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

Larripa, Irene
Academia Nacional de Medicina,
CABA, Argentina

Lastrebnier, Marcelo
Sanatorio Sagrado Corazón,
CABA, Argentina

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

Martínez Rolón, Juliana
FUNDALEU, CABA, Argentina

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

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

Milone, Jorge
Hospital Italiano, La Plata, Argentina

Milovic, Vera.
Hospital Alemán, CABA, Argentina.

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

Neme, Daniela
Fundación de la Hemofilia.
CABA, Argentina

Nucifora, Elsa
Hospital Italiano, CABA, Argentina

Oleastro Matías
Hospital Garrahan, CABA, Argentina

Pavlovsky, Astrid
Centro de Hematología Pavlovsky.
CABA, Argentina

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

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

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

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

Shanley, Claudia
Hospital Británico. CABA, Argentina

Tartas, Norma
Instituto Fleming, CABA, Argentina

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

Wannesson, Luciano
Instituto Oncológico della Svizzera Italiana
Bellinzona, Suiza

Zerga, Marta
Hospital Roffo, CABA, Argentina

VOLUMEN 23 Nº EXTRAORDINARIO • Octubre 2019 • Publicada en Octubre de 2019 • 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 Nº 155751

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

OPEN  ACCESS

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 polo shirt and dark blue shorts, smiling and looking down at his handlebars. Behind him, another boy with a blue backpack is riding a blue bicycle. In the background, a girl is also riding a bicycle. The scene is bright and sunny with green trees and grass.

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

ARGENTINA

VOLUMEN 23 Nº EXTRAORDINARIO • Octubre 2019

CONTENIDO

EDITORIAL

Palabras Prof. Dra. Dorotea Fantl - Presidente SAH..... 9

Autoridades..... 10

AVK O DOACS Y DOBLE O TRIPLE ESQUEMA EN SCA

Antagonistas de vitamina K o anticoagulantes de acción directa. Doble o triple esquema en síndromes coronarios agudos

Aris Cancela ME..... 14

ROL DE NGS EN PATOLOGIA MIELOIDE

Secuenciación masiva paralela (NGS): conceptos básicos y aplicaciones

Jauk F...... 21

LINFOMAS NO HODGKIN EN PEDIATRÍA

Linfomas no Hodgkin en niños, adolescentes y adultos jóvenes: nuevos desafíos

Soria ME...... 39

GAMM. DESAFÍOS EN EL MANEJO DEL MIELOMA HOY

Novedades en el diagnóstico citogenético del mieloma múltiple

Stella F; Pedrazzini E; Slavutsky I..... 54

TALASEMIA INTERMEDIA VS TALASEMIA MAYOR

Nuevas estrategias para el tratamiento de la β talasemia

Basack N..... 60

TALASEMIA INTERMEDIA VS TALASEMIA MAYOR

Beta-talasemia severa y embarazo

Chiappe G..... 68

TALASEMIA INTERMEDIA VS TALASEMIA MAYOR

Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en pacientes con β talasemia mayor

Drelichman G..... 74

TALASEMIA INTERMEDIA VS TALASEMIA MAYOR

Talasemias dependientes y no dependientes de transfusiones. Bases moleculares, clínica y manejo convencional

Feliu Torres AS...... 82

ACTUALIZACIÓN EN LLA

Métodos diagnósticos para leucemias linfoblásticas B con perfil Ph-like (LLA Ph-like)

Lang CA 93

ACTUALIZACIÓN EN LLA

Actualización en trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en leucemia linfoblástica aguda en adultos

Basquiera AL 100

MANEJO INTERDISCIPLINARIO DE LA TRANSFUSIÓN

Previsión transfusional en el paciente quirúrgico

Raña P. 106

MANEJO INTERDISCIPLINARIO DE LA TRANSFUSIÓN

Algoritmo inmunohematológico en pacientes tratados con Anti-CD38.

Vellicce A, Arto P, García M, Guaita J, Marcos V, Corso A 110

MANEJO INTERDISCIPLINARIO DE LA TRANSFUSIÓN

Sospecha y manejo de la refractariedad plaquetaria

Rabinovich OM 116

DISCONTINUACIÓN DEL TRATAMIENTO EN LMC. ¿ESTAMOS PREPARADOS?

Discontinuación del tratamiento en leucemia mieloide crónica. ¿Estamos preparados?

Pavlovsky C, Moiraghi B, Bianchini M, Bullorsky L, Osycka V, Freitas MJ, Bengio R, Larripa I, Riveros D, Varela A 123

CONTROVERSIAS EN LINFOMAS AGRESIVOS

Valoración del PET interino en el linfoma difuso de células grandes B

Márquez M 131

CONTROVERSIAS EN LINFOMAS AGRESIVOS

Prevención cuaternaria en linfomas (“O todos los estudios que alguna vez hemos pedido de más!”)

Zerga M 139

CONTROVERSIAS EN LINFOMAS AGRESIVOS

Dificultades en el diagnóstico de linfomas agresivos

Vijnovich Baron A 146

MODELOS DE PROYECTOS COOPERATIVOS: EXPERIENCIA EN SMD Y LEUCEMIAS AGUDAS

Tratamiento de síndromes mielodisplásicos de alto riesgo y experiencia en agentes hipometilantes

Lazzarino CP 152

MODELOS DE PROYECTOS COOPERATIVOS: EXPERIENCIA EN SMD Y LEUCEMIAS AGUDAS

Influencia de la progresión leucémica en el pronóstico de los pacientes con síndromes mielodisplásicos y experiencia nacional en leucemias mieloides agudas secundarias

Belli CB, Dick H, Giménez Conca AD 161

¿COMO LLEVAR A CABO UN PROYECTO DE INVESTIGACIÓN?

¿Cómo llevar a cabo un proyecto de investigación? La pregunta de investigación y diseño de estudios clínicos

Berro M 171

CONCEPTOS RELEVANTES SOBRE ENFERMEDAD RESIDUAL MEDIBLE EN LMA

Enfermedad residual medible en leucemia mieloide aguda. ¿Cómo evaluarla? Conceptos y aspectos de laboratorio

Zanella MJL 174

CONCEPTOS RELEVANTES SOBRE ENFERMEDAD RESIDUAL MEDIBLE EN LMA

¿Cuándo y para qué evaluamos enfermedad residual medible en leucemias mieloides agudas?

Rey IH 184

MIELOPROLIFERATIVOS: INCÓGNITAS SIN DEVELAR “El nicho mieloproliferativo... el campo de batalla” <i>Castro Ríos M.</i>	193
MIELOPROLIFERATIVOS: INCÓGNITAS SIN DEVELAR Plaquetas: entre el sangrado y la trombosis en mieloproliferativos <i>Heller PG</i>	200
SIMPOSIO ACV: MAS ALLA DE LA FIBRILACION AURICULAR ACV, más allá de la FA: Miocardiopatías <i>Noya L</i>	205
SIMPOSIO ACV: MAS ALLÁ DE LA FIBRILACIÓN AURICULAR Tratamiento antitrombótico en ESUS (Embolic Stroke of Undetermined Source)Antithrombotic Treatment in ESUS. <i>Fedele JL, Bruera GM</i>	209
SIMPOSIO ACV: MAS ALLÁ DE LA FIBRILACIÓN AURICULAR Tratamiento antitrombótico en foramen oval permeable y cierre de la orejuela <i>Cortés Guerrieri V.</i>	215
DIFICULTAD DIAGNOSTICA Y TERAPÉUTICA DE LOS SÍNDROMES DE SUPERPOSICIÓN MIELOPROLIFERATIVOS/MIELODISPLÁSICOS Desafíos diagnósticos y terapéuticos en las neoplasias mieloproliferativas/mielodisplásicas: dudas y certezas clinicopatológicas <i>González J, Vijnovich Baron A, Varela AI</i>	221
SIMPOSIO: HEMOSTASIA PERIOPERATORIA Valor de las pruebas de coagulación en la predicción del sangrado operatorio <i>Vilaseca A.</i>	230
SIMPOSIO: HEMOSTASIA PERIOPERATORIA Transfusiones plaquetarias en pacientes con desórdenes adquiridos de la función plaquetaria <i>Vellicce A, Arto P, García M, Cicero C, Portalez AP</i>	239
SIMPOSIO: HEMOSTASIA PERIOPERATORIA Anticoagulantes orales directos (DOACs) en el perioperatorio <i>Korin J</i>	247
LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA EN PEDIATRÍA Leucemia mieloide crónica en pediatría <i>D'Aloi K</i>	253
LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA EN PEDIATRÍA Leucemia mieloide crónica en pediatría: rol del laboratorio en el diagnóstico y seguimiento <i>Zanella MJL</i>	261
CONTROVERSIAS EN LINFOMAS INDOLENTES Beneficio indiscutible en el mantenimiento con rituximab por dos años en pacientes con linfoma folicular que alcanzan remisión completa luego de inmunoterapia de primera línea. <i>Mahuad CV</i>	268
CONTROVERSIAS EN LINFOMAS INDOLENTES Rol del mantenimiento en linfoma folicular <i>Giuliani F, Pavlovsky MA</i>	278

ACTUALIZACIÓN EN LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA

Leucemia linfocítica crónica en pacientes jóvenes: análisis de sus características clínicas, factores pronóstico y evolución.

Dres. Fernández GH, Pavlovsky A, Enrico A, Bezares R, Cugliari M, Crip R, Gonzalez J, de Goycochea D, Kornbliht L, Arbelbide J, Ferini G, Slavutsky I, Kruss M, Dupont J, Lafalce D, Villegas DC, Barberis M, Heller V, Noya L, Riveros D, Tosin MF, Campos C, Hendler H, Robin M, Fischman L, Bendek G, Custiniano R, Pose J, Gamberale R, Giordano M, Miroli A, Guanchiale L, Pavlovsky M, Cabrejo M..... 283

ACTUALIZACIÓN EN LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA

Evaluación de mutaciones del gen TP53 en leucemia linfocítica crónica

Stanganelli C, Cabrera J, Slavutsky I..... 290

ACTUALIZACIÓN EN LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA

Deleciones de BIRC3 en leucemia linfocítica crónica

Galvano C, Slavutsky I..... 295

CONFERENCIA NACIONAL DR. ALFREDO PAVLOVSKY

A 35 años de una obsesión. Linfoma de células grandes anaplásicas CD30+

Narbaiz MI..... 300

SIMPOSIO SAH/CAHT - A LA LUZ DE LA NUEVA EVIDENCIA: ¿HAY QUE CAMBIAR LA CONDUCTA ANTI-TROMBÓTICA?

Anticoagulantes orales directos (DOACs) en profilaxis y tratamiento de trombosis asociada a cáncer (TAC)

Korin J..... 311

SIMPOSIO SAH/CAHT - A LA LUZ DE LA NUEVA EVIDENCIA: ¿HAY QUE CAMBIAR LA CONDUCTA ANTI-TROMBÓTICA?

Profilaxis en embarazo: la guía de la American Society of Hematology 2018 ¿modifica nuestra conducta?

Molnar S..... 316

IV SIMPOSIO CONJUNTO EHA - SAH

Trombosis asociada a cáncer (TAC). Nuevos desafíos para el hematólogo.

Maneyro AJ..... 320

IV SIMPOSIO CONJUNTO EHA - SAH

Puntuaciones de predicción clínica para el tromboembolismo venoso en pacientes con neoplasia hematológica

Frits Mulder, MD, PhD; Nick van Es, MD, PhD..... 325

IV SIMPOSIO CONJUNTO EHA - SAH

Terapia epigenética y más allá en leucemia mieloblástica aguda

Rivas MM..... 330

IV SIMPOSIO CONJUNTO EHA - SAH

Métodos para detectar la enfermedad mínima residual

Torsten Haferlach, Ines Schmidts..... 337

IV SIMPOSIO CONJUNTO EHA - SAH

Prevención de recaídas en trasplante de progenitores hematopoyéticos

Jarchum G..... 346

IV SIMPOSIO CONJUNTO EHA - SAH

Hemorragia en trauma: fisiopatología y manejo

Fondevila CG..... 354

IV SIMPOSIO CONJUNTO EHA - SAH

Transfusión en pacientes con sangrado agudo mayor: evidencia de cuándo, a quién y qué producto es mejor

Zwaginga JJ..... 363



Palabras de la Prof. Dra. Dorotea Fantl

**Presidenta de la Sociedad
Argentina de Hematología**

dorotea.fantl@hospitalitaliano.org.ar
sah@sah.org.ar



EDITORIAL

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: xx-xx
Octubre 2019

*Este número de la Revista Hematología, órgano oficial de la SAH, que en apariencia no es diferente a los anteriores, es el número extraordinario del **XXIV Congreso Argentino de Hematología, IV Simposio Conjunto de la Asociación Hematológica Europea (EHA)-Sociedad Argentina de Hematología (SAH) y X Congreso del Grupo Rioplatense de Citometría de Flujo***

En esta publicación encontrarán las conferencias más relevantes desarrolladas durante el Congreso realizado en Mendoza, aportadas por la generosa colaboración de los ponentes que han compartido sus conocimientos; a todos ellos nuestro profundo agradecimiento.

El volumen abarca temas inherentes a la patología benigna como hemoglobinotías, hemostasia, hemofilia, etc; y patología maligna como linfomas, leucemias, trasplante. Los temas se desarrollarán desde lo molecular a lo terapéutico, incorporando la visión de hematólogos nacionales e internacionales.

Que la edición de este número extraordinario de nuestra revista contribuya a aprovechar los nuevos avances científicos.

XXIV Congreso Argentino de Hematología
IV Simposio Educacional conjunto EHA – SAH
I Highlights of Past EHA (HOPE) Latin America
X Congreso del Grupo Rioplatense de Citometría de Flujo

COMISION DIRECTIVA

Presidente

Dra. Dorotea Fantl

Vicepresidente

Dr. Germán Stemmelin

Secretaria

Dra. Cecilia Foncuberta

Tesorero

Dr. Patricio Duarte

Protesorero

Dra. Juliana Martínez Rolón

Secretaria de actas y publicaciones

Dra. Ana Basquiera

Vocales titulares

Dra. María Silvana Cugliari

Dra. Susana Garbiero

Dr. José M. Ceresetto

vocales suplentes

Dr. Juan José García

Dr. Miguel González

Dr. Daniel Sutovsky

COMITÉ CIENTÍFICO

Dra. Cecilia Colorio

Dra. Rosario Custidiano

Dra. Lourdes Herrera

Dra. Carolina Mahuad

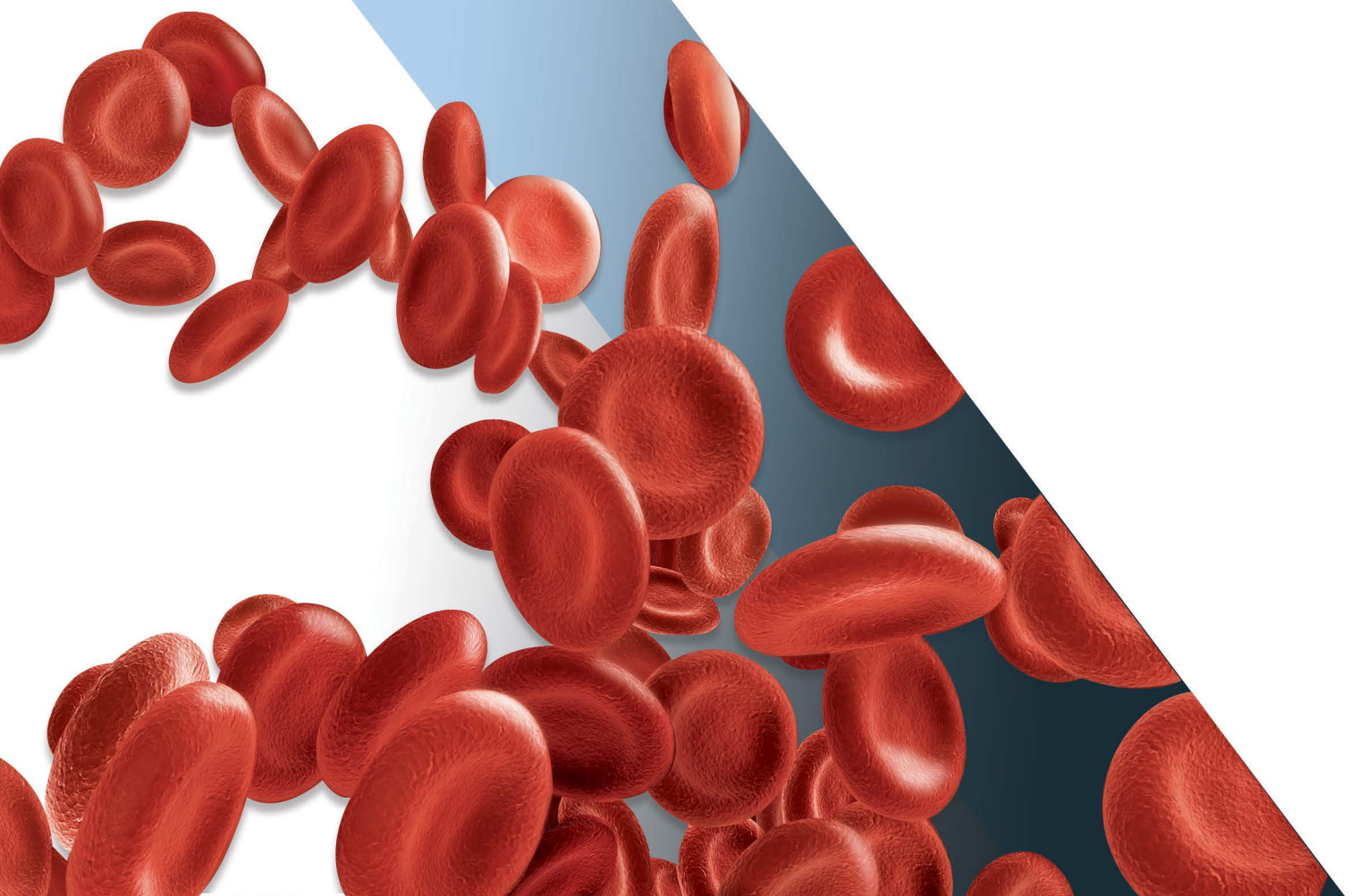
Dra. Natalia Schütz

Dr. David Verón

Kemex

laboratorio

*acompaña a la
Sociedad Argentina
de Hematología.*



Nuevo
Lanzamiento



El camino indicado.

Binap® facilita la adherencia al tratamiento,
gracias a su cómoda dosificación oral,
una vez al día

Indicaciones:

LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA¹

LINFOMA DE CÉLULAS DEL MANTO¹

MACROGLOBULINEMIA DE WALDENSTRÖM¹

1. Información para prescribir. ANMAT certificado 58845/18.

Vademécum Hematología VARIFARMA

> **BENDAVAR®**
BENDAMUSTINA CLORHIDRATO
Presentación:
25 y 100 mg frasco ampolla

Nuevo
BINAP®
IBRUTINIB
Presentación: Cápsulas x 90 y 120

> **CISTADINE®**
CLOFARABINA
Presentación:
20 mg (frasco ampolla 20 ml)

> **CELIXAFOR®**
PLERIXAFOR
Presentación:
20 mg sol. inyectable
x 1 frasco ampolla

> **LEUNIB®**
DASATINIB
Presentación:
50 mg/ 60 comprimidos
70 mg/ 60 comprimidos
100 mg/ 30 comprimidos

> **MESINIB®**
IMATINIB (MESILATO)
Presentación:
100 mg/ 180 comprimidos recubiertos
400 mg/ 30 comprimidos recubiertos

> **VARITRINOX®**
TRÍOXIDO DE ARSÉNICO
Presentación:
10 mg x 10 ampollas

> **VIDAZA®**
AZACITIDINA
Presentación:
100 mg (polvo liofilizado)

 **VARIFARMA**
Compromiso con la calidad

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

Información del producto
disponible en el código QR



Uruguay 3698 (B1643E2), Béccar
Buenos Aires, Argentina.
Tel.: +5411 4723-2830
www.varifarma.com.ar
farmacovigilancia@varifarma.com.ar

Antagonistas de vitamina K o anticoagulantes de acción directa. Doble o triple esquema en síndromes coronarios agudos

Vitamin K antagonist or direct oral anticoagulants. Dual or triple therapy in acute coronary syndromes

Aris Cancela ME

ICBA, Instituto Cardiovascular de Buenos Aires. Hospital Universitario Austral

ariscancela@gmail.com



AVK O DOACS
Y DOBLE O TRIPLE
ESQUEMA EN SCA

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 14-20
Octubre 2019

Palabras claves: anticoagulantes de acción directa, antagonistas de vitamina K, triple esquema.

Keywords: direct oral anticoagulants, vitamin K antagonist, triple antithrombotic therapy.

Introduction

La elección del tratamiento antitrombótico en pacientes con fibrilación auricular y enfermedad coronaria, especialmente síndromes coronarios agudos (SCA) o intervención coronaria percutánea (PCI), es un dilema.

Estos pacientes requieren tratamiento anticoagulante, ya sea con anti-vitamina K (AVK) o anticoagulantes de acción directa (DOAC), para reducir las complicaciones embólicas como accidente cerebrovascular (ACV) o embolia periférica. Por otra parte, el tratamiento antiplaquetario dual con inhibidor de P2Y₁₂ y aspirina es de elección para prevenir eventos aterotrombóticos recurrentes y trombosis del stent.

La asociación de tratamiento anticoagulante (OAC) y doble antiagregante (DAPT) se conoce como triple esquema (TAT). Esta asociación, si bien reduce el riesgo de eventos trombóticos, incrementa el sangrado mayor.

El tratamiento antitrombótico para pacientes con fi-

brilación auricular y PCI/SCA ha evolucionado en el último tiempo con el objetivo de hallar la estrategia que resulte en el mejor balance de riesgo y beneficio, esto es reducir el riesgo de tromboembolismo por fibrilación auricular y el riesgo de complicaciones relacionadas al stent en pacientes con enfermedad arterial coronaria.

Estrategias terapéuticas

Sabemos que la asociación de tratamiento anticoagulante y antiagregante incrementa 4 veces el riesgo de sangrado mayor y hemorragia intracraneal. Estudios observacionales sugieren que las tasas de sangrado mayor a un año oscilan entre el 5% y el 15% dependiendo de la estrategia antitrombótica y la definición de sangrado mayor.

Si bien el sangrado fue considerado históricamente reversible y sin importancia pronóstica, múltiples estudios observacionales y randomizados demostraron que los eventos de sangrado son predictores independientes de evolución adversa, incluyendo

ACV, infarto de miocardio y muerte cardiovascular. El principio básico al seleccionar el tratamiento es la prevención de sangrado, minimizando la intensidad y duración del efecto antitrombótico, pero manteniendo la eficacia para prevenir eventos isquémicos. Una de las opciones es evitar el tratamiento anticoagulante en este escenario, indicando sólo antiplaquetarios.

El tratamiento antiplaquetario dual o simple demostró ser inferior comparado al anticoagulante en prevención de ACV en fibrilación auricular.

El estudio ACTIVE W (*Atrial fibrillation Clopidogrel Trial with Irbesartan for prevention of Vascular Events*) evaluó OAC con DAPT y mostró superioridad del AVK con respecto a DAPT. El estudio fue detenido tempranamente por una clara evidencia de superioridad del tratamiento anticoagulante oral. El riesgo anual de eventos fue de 3.93% en el grupo de OAC comparado con 5.60% en el grupo DAPT, riesgo relativo 1.44 (IC 95% 1.18-1.76). Los autores concluyeron que OAC fue superior a clopidogrel más aspirina para la prevención de eventos en pacientes con FA con alto riesgo de ACV, especialmente en los pacientes que ya venían anticoagulados⁽¹⁾.

Otro estudio, AVERROES (*Apixaban in patients with atrial Fibrillation*), comparó al apixabán con aspirina en pacientes de alto riesgo de ACV que no eran candidatos a recibir anticoagulantes AVK. Este estudio fue interrumpido tempranamente al demostrar un claro beneficio del apixabán por sobre el antiagregante al reducir significativamente el riesgo de ACV, sin aumentar el riesgo de sangrado mayor o intracraneal⁽²⁾.

Una segunda alternativa es evaluar si es posible simplificar la combinación de antiplaquetarios.

La asociación de un inhibidor de P2Y12 y aspirina es el estándar de tratamiento en pacientes post PCI/SCA.

Nuevamente, y con el objetivo de reducir las complicaciones hemorrágicas, el estudio WOEST (*Use of clopidogrel with or without aspirin in patients taking oral anticoagulant therapy and undergoing percutaneous coronary intervention: an open-label, randomised, controlled trial*) evaluó el impacto de la eliminación de aspirina. La población analizada fue la de pacientes que requerían anticoagulación, en su mayoría por fibrilación auricular, que fueron angioplastiados con implante de stent. Las estra-

tegias de tratamiento fueron clopidogrel asociado a AVK sin aspirina (tratamiento dual) comparado con triple terapia (clopidogrel y aspirina asociado a AVK). El tratamiento dual redujo en forma significativa los eventos de sangrado (19% vs 44.4% HR 0.36, IC95% 0.26-0.50). No hubo un incremento de eventos trombóticos. El seguimiento fue a un año post PCI⁽³⁾.

El estudio WOEST se constituyó en la primera evidencia aleatorizada que demostró que la supresión de aspirina redujo las hemorragias sin aumentar las complicaciones isquémicas.

Los anticoagulantes de acción directa rivaroxabán, dabigatrán, apixabán y edoxabán (éste último no aprobado en Argentina), tienen una eficacia similar o superior a los AVK en cuanto a la prevención de eventos isquémicos como ACV o embolia periférica. Su perfil de seguridad es también superior, reduciendo en más de un 50% el riesgo de sangrado en sistema nervioso central⁽⁴⁻⁷⁾.

Considerando su perfil de riesgo y beneficio, los tres anticoagulantes fueron testeados en pacientes con fibrilación auricular que fueron sometidos a angioplastia con stent.

El estudio PIONEER AF-PCI (*Open-Label, Randomized, Controlled, Multicenter Study Exploring Two Treatment Strategies of Rivaroxaban and a Dose Adjusted Oral Vitamin K Antagonist Treatment Strategy in Subjects with Atrial Fibrillation who Undergo Percutaneous Coronary Intervention*) comparó distintas estrategias terapéuticas post angioplastia en 2124 pacientes con fibrilación auricular. Los pacientes fueron randomizados en tres grupos: el grupo 1 recibió 15 mg de RVX por día más tratamiento antiplaquetario con un inhibidor de P2Y12, el grupo 2 una dosis muy baja de rivaroxabán, 2.5 mg cada 12 h asociada a DAPT, aumentando la dosis de rivaroxabán a 15 mg/día al suspender el P2Y12. El grupo 3 fue el comparador que recibió AVK más DAPT (triple esquema)⁽⁸⁾.

Los pacientes que recibieron rivaroxabán en baja dosis (grupo 1) o en muy baja dosis (grupo 2) durante el período pre especificado de 1, 6 o 12 meses tuvieron una tasa de sangrado clínicamente significativo menor comparado con el triple esquema con un AVK. El punto final primario en el grupo 1 fue de 16.8%, 18% en el grupo 2 y 26.7% en el grupo 3. *Hazard ratio* (HR) para grupo 1 vs. grupo 3, 0.59 (95%IC. 0.47-0.76). El HR del grupo 2 vs. 3 fue de

0.63 (IC 95% 0.50-0.80).

La eficacia fue similar en los tres grupos; la muerte, infarto agudo de miocardio o ACV fue del 6.5% en el grupo 1, 5.6% en grupo 2 y 6% en grupo 3, si bien el poder estadístico fue bajo para evaluar eventos isquémicos.

El estudio REDUAL PCI (*Randomized Evaluation of Dual Antithrombotic Therapy with Dabigatran versus Triple Therapy with Warfarin in Patients with Nonvalvular Atrial Fibrillation Undergoing Percutaneous Coronary Intervention*) randomizó 2725 pacientes con fibrilación auricular angioplastiados (50% en contexto de síndrome coronario agudo) a dos regímenes de doble terapia, 150 mg o 110 mg de dabigatrán asociado a un inhibidor de P2Y₁₂, siendo el comparador un triple esquema de doble tratamiento antiplaquetario asociado a un AVK⁽⁹⁾. El punto final primario fue de seguridad, evaluando sangrado mayor y sangrado no mayor clínicamente relevante durante el periodo de 14 meses.

El dabigatrán en ambas dosis fue no inferior en seguridad, siendo la dosis de 110 mg superior en cuanto a reducción de los eventos de sangrado. La incidencia del punto final primario fue 15.4% en tratamiento dual con dabigatrán 110 mg comparado con 26.9% de terapia triple (HR; 0.52 IC95% 0.42-0.63). En la rama de tratamiento de 150 mg dabigatrán asociado a antiplaquetario la incidencia fue de 20.2% comparado con 25.7% de la triple terapia (HR 0.72; IC95% 0.58-0.88 para no inferioridad). La incidencia de los eventos combinados para eficacia fue de 13.7% en las dos ramas de tratamiento dual comparado con 13.4% en el grupo de terapia triple no habiendo diferencias significativas. El doble esquema no mostró inferioridad con respecto a los eventos tromboembólicos, mortalidad y la revascularización no planeada.

Tanto el rivaroxabán como el dabigatrán usan como comparador el tratamiento antiplaquetario dual asociada a AVK (triple esquema), por lo que la ventaja en seguridad podría atribuirse tanto al anticoagulante de acción directa usado o a la supresión de aspirina en el esquema terapéutico.

El estudio AUGUSTUS (An open label, 2x2 Factorial, Randomized Controlled, Clinical Trial to Evaluate the Safety of Apixaban vs. Vitamin K Antagonist and Aspirin vs. Aspirin Placebo in Patients With Atrial Fibrillation and Acute Coronary Syndrome and /or Percutaneous Coronary Intervention)

randomizó 4614 pacientes con síndrome coronario agudo (25%) o intervención coronaria percutánea en un diseño factorial 2 x 2, a recibir apixabán versus AVK (abierto) y aspirina o placebo (ciego) durante 6 meses. Todos los pacientes recibieron un inhibidor de P2Y₁₂⁽¹⁰⁾. El punto final primario fue el sangrado mayor y sangrado clínicamente relevante no mayor. Como puntos finales secundarios se evaluaron la muerte, hospitalización y los eventos isquémicos combinados.

El sangrado mayor o no mayor clínicamente relevante fue de 10.5% en los pacientes que recibieron apixabán comparado con 14.7% en los que recibieron antagonistas de vitamina K (HR 0.69; IC95% 0.58-0.81) siendo no inferior y superior al comparador. En los pacientes que recibieron aspirina fue de 16.1% en comparación al 9% de los que recibieron placebo (HR 1.89; IC 95% 1.59-2.24). Los pacientes en el grupo apixabán tuvieron una menor incidencia de muerte u hospitalización, 23.5% vs. 27.4% a expensas de la hospitalización (HR 0.83; IC95% 0.74-0.93) y similar incidencia de eventos isquémicos. Los pacientes en el grupo aspirina tuvieron una incidencia de muerte, hospitalización y eventos isquémicos similar al grupo placebo.

Es necesario considerar que la suspensión de aspirina fue a una mediana de 6 días post angioplastia o SCA, por lo que la mayoría de los pacientes en el ensayo estuvieron bajo aspirina durante el periodo de alto riesgo isquémico.

El estudio AUGUSTUS ayuda a discriminar la contribución del anticoagulante de acción directa por un lado y de la aspirina por otro con respecto al riesgo de sangrado demostrando que ambos son beneficiosos.

El beneficio de usar un DOAC con respecto a los AVK en el contexto de fibrilación auricular e intervención percutánea coronaria son reflejados en las guías de fibrilación auricular.

Un meta-análisis en red compara simultáneamente distintas estrategias antitrombóticas para seguridad y eficacia de distintos regímenes antitrombóticos incluyendo a 10026 pacientes de los estudios WOEST, PIONEER AF-PCI, RE-DUAL PCI, Y AUGUSTUS. Concluyen que un régimen de un DOAC más un inhibidor de P2Y₁₂ estuvo asociado con menos sangrado comparado con AVK y antiagregación dual. Las estrategias que omiten la aspirina causaron menos sangrado incluyendo sangrado intracra-

neal, sin diferencias significativas en los eventos cardiovasculares isquémicos mayores⁽¹¹⁾.

El estudio ENTRUST-FA PCI (*Edoxaban-based versus vitamin K antagonist-based antithrombotic regimen after successful coronary stenting in patients with atrial fibrillation*) randomizará pacientes a recibir 60 mg de edoxabán por día asociado a clopidogrel 75 mg durante 12 meses. Puede usarse prasugrel o ticagrelor en las dosis habituales a criterio del investigador. El grupo comparador recibe un triple esquema con AVK. Este estudio testeará si la estrategia basada en edoxabán reduce el riesgo de sangrado post PCI comparado con la estrategia convencional. También evaluará el riesgo relativo de complicaciones isquémicas. Los resultados están próximos a su publicación⁽¹²⁾.

Es importante resaltar que en la medida que se consolida la evidencia, algunas recomendaciones van cambiando y se registran en las guías^(14,15).

En cuanto al manejo de la anticoagulación peri-intervención percutánea, para la guía americana es necesario suspender previamente el tratamiento anticoagulante, sin puente con heparina (con excepción de los síndromes coronarios agudos, donde la heparina es parte integral del tratamiento). El RIN diana es ≤ 2 para acceso radial y ≤ 1.5 para el femoral. No es necesaria la suspensión en procedimientos de emergencia. La guía europea sugiere como estrategia la no interrupción del AVK sin puente con heparina, interrumpir el DOAC y coincide con la no suspensión en caso de procedimiento de emergencia. El manejo de la heparina no fraccionada durante el procedimiento sería el habitual (70-100 U/k) para la guía americana, pero en dosis ajustada (30-50 U/k) en caso de efecto del AVK para la europea y sin modificación de la dosis de heparina no fraccionada si recibe un DOAC.

Con respecto al tratamiento antiagregante, todos reciben aspirina, y como inhibidor de P2Y₁₂, ambas guías recomiendan al clopidogrel. La guía europea recomienda el pretratamiento en caso de anatomía coronaria conocida, casos de emergencia o angioplastia probable.

En la decisión del tratamiento antitrombótico post procedimiento, ambas guías prefieren un DOAC por sobre el AVK, debido al menor riesgo de sangrado demostrado como efecto de clase. Si se selecciona un DOAC recomiendan la dosis establecida para prevención de accidente cerebro vascular.

Si el riesgo trombótico del paciente es elevado, la guía americana sugiere dabigatrán 150 mg cada 12 h, mientras la dosis de 110 se prefiere en pacientes de bajo riesgo. La dosis de 15 mg de rivaroxabán podría ser usada en vez de 20 mg. La guía europea sugiere como parte del triple esquema al dabigatrán en la dosis de 110 mg cada 12 h, rivaroxabán 15 mg día, apixabán 5 mg cada 12 h. Sin embargo, si el DOAC es parte de un dual prefiere la dosis de 150 mg cada 12 h de dabigatrán, 15 mg de rivaroxabán (o 20 mg cuando hace la transición de triple a doble) y 5 mg cada 12 h de apixabán. Si el paciente es tratado con AVK ambas guías sugieren un RIN diana de 2.0 a 2.5 en cuanto sea componente del triple esquema. La duración del tratamiento anticoagulante en fibrilación auricular será indefinida.

El período de tratamiento triple será determinado luego de evaluar el riesgo trombótico y hemorrágico del paciente. El tratamiento con aspirina y el inhibidor de P2Y₁₂ (preferentemente clopidogrel) es indicado peri intervención o durante un mes en pacientes de alto riesgo trombótico y bajo riesgo hemorrágico. La guía europea lo indica 1 mes y de 3 a 6 meses en SCA. La discontinuación del inhibidor del receptor de ADP será a los 12 meses para la mayoría de los pacientes, pero antes si el riesgo hemorrágico del paciente lo indica.

Existen otras estrategias para evitar sangrado, no menos importantes que el ajuste del tratamiento antitrombótico. Es necesario definir la necesidad del procedimiento de intervención percutánea, evaluar el balance de riesgo trombótico y hemorrágico para cada paciente, seleccionar el acceso vascular (preferentemente radial) y tipo de stent, evitar el uso de antiinflamatorios no esteroideos y, finalmente, conocer que el perfil de riesgo trombótico y hemorrágico de cada paciente es dinámico debiendo ser estratificado en forma periódica⁽¹⁶⁾.

Conclusiones

La estrategia antitrombótica mas apropiada para el manejo de un paciente con fibrilación auricular y enfermedad coronaria particularmente en el contexto de un síndrome coronario agudo con intervención coronaria percutánea e implante de stent es un desafío.

En pacientes con fibrilación auricular que van a intervención percutánea coronaria con implante de stent el uso de un anticoagulante de acción directa

asociado a un inhibidor de P2Y12, en general clopidogrel, debería ser la estrategia de elección.

El uso de un AVK asociado a terapia antiplaquetaria dual debería ser evitado. El tratamiento dual reduce el riesgo de sangrado comparado con el triple esque-

ma y parece tener un efecto similar en cuanto a la prevención de eventos isquémicos.

La aplicabilidad de esta estrategia de tratamiento dual deberá ser analizada específicamente en pacientes de alto riesgo isquémico.

Estudio	PIONEER AF-PCI	RE-DUAL PCI	AUGUSTUS
Tratamiento	Rivaroxabán + inh. P2Y12 o DAPT vs. VKA + DAPT	Dabigatrán 150 o 110 + inh. P2Y12 vs VKA + DAPT	Apixabán + AAS/plac vs. VKA + AAS/plac.
Población (Número de pacientes).	FANV que van a PCI (2124)	FANV que van a PCI (2725)	FANV que van a PCI o SCA (4600)
Randomización	1-Rivaroxabán 15 mg diarios (*) + inh. P2Y12 2-Rivaroxabán 2.5 cada 12 h + DAPT 3-VKA + DAPT	Dabigatrán 150 mg + inh P2Y12 Dabigatrán 110 mg + inh P2Y12 VKA + DAPT	Apixabán 5 mg o 2.5 cada 12 h + AAS / placebo VKA+ AAS/placebo
Duración	12 m	6 m a 30 m	6 m
Punto final primario	Sangrado clínicamente significativo (a)	Sangrado mayor o clínicamente relevante no mayor (b)	Sangrado mayor o clínicamente relevante no mayor (b)
Análisis	“Treatment emergent period”	Tiempo al primer evento	Tiempo al primer evento
Punto final primario	Grupo 1= 16.8% Grupo 2= 18% Grupo 3= 26.7%	Dbgt 150 + DAPT= 20.2% Dbgt 110 + DAPT= 15.4% VKA + DAPT= 26.9%	Apixabán + plac= 16.8% año AVK + plac= 26.7% Apixaban + AAS= 33.6%año AVK + AAS=49.1%año
Punto final secundario (**)	Grupo 1= 6.5% Grupo 2= 6% Grupo 3= 6%	Dabigatrán 150 o 110 + Inh P2Y12 = 13.7% VKA+DAPT=13.4%	Apixabán= 23.5% AVK= 27.4%
Conclusión general	Menor sangrado en grupo 1 con respecto a grupo 3 Eficacia similar Dosis no aprobadas para prevención de ACV en FA	Superior el tratamiento dual en dosis de 110 mg en prevención de sangrado Eficacia similar	Deleción de aspirina del esquema logra el mejor perfil de seguridad

(a) Sangrado mayor, menor (escala TIMI), o que requiere atención médica

(b) Según ISTH

(*) ajusta rivaroxabán a 10 mg con depuración de creatinina entre 30 y 50 ml/min

(**) PIONEER AF PCI: muerte, IAM, ACV. RE- DUAL PCI: eventos tromboembólicos (IAM, ACV, embolia sistémica), muerte o revascularización no planeada. AUGUSTUS: muerte o hospitalización

AVK: anti vitamina K. Dbdt: dabigatrán

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

Bibliografía

1. Connolly S, Pogue J, Hart R, Pfeffer M y col. Clopidogrel plus aspirin versus oral anticoagulation for atrial fibrillation in the Atrial fibrillation Clopidogrel Trial with Irbesartan for prevention of Vascular Events (ACTIVE W): a randomised controlled trial. *ACTIVE Writing Group of the ACTIVE Investigators. Lancet.* 2006 Jun 10;367(9526):1903-12.
2. Connolly SJ, Eikelboom J, Joyner C y col. Apixaban in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med.* 2011; 364:806-17.
3. Dewilde WJ, Oirbans T, Verheugt FW y col. Use of clopidogrel with or without aspirin in patients taking oral anticoagulant therapy and undergoing percutaneous coronary intervention: an open-label, randomised, controlled trial. *WOEST study investigators Lancet.* 2013 Mar 30;381(9872):1107-15.
4. Connolly SJ, Ezekowitz MD, Yusuf S y col. Dabigatran versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *RE-LY Steering Committee and Investigators. N Engl J Med.* 2009 Sep. 17;361(12):1139-51.
5. Patel MR, Mahaffey KW, Garg J y col. Rivaroxaban versus warfarin in nonvalvular atrial fibrillation. *ROCKET AF Investigators. N Engl J Med.* 2011 Sep 8;365(10):883-9.
6. Granger CB, Alexander JH, McMurray JJ y col. Apixaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *ARISTOTLE Committees and Investigators. N Engl J Med.* 2011 Sep 15;365(11):981-92.
7. Giugliano RP, Ruff CT, Braunwald E y col. Edoxaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *ENGAGE AF-TIMI 48 Investigators. N Engl J Med.* 2013 Nov 28;369(22):2093-104.
8. Gibson CM, Mehran R, Bode C, y col. Prevention of Bleeding in Patients with Atrial Fibrillation Undergoing PCI. *N Engl J Med.* 2016 Dec 22;375(25):2423-2434.
9. Cannon CP, Bhatt DL, Oldgren J y col. Dual Anti-thrombotic Therapy with Dabigatran after PCI in Atrial Fibrillation. *RE-DUAL PCI Steering Committee and Investigators N Engl J Med.* 2017 Oct 19;377(16):1513-1524.
10. Lopes RD, Heizer G, Aronson R y col. Antithrombotic Therapy after Acute Coronary Syndrome or PCI in Atrial Fibrillation. *AUGUSTUS Investigators. N Engl J Med.* 2019 Apr 18;380(16):1509-1524.
11. Lopez RD, Hong H, Harskamp RE y col. Antithrombotic Strategies in Patients With Atrial Fibrillation Undergoing Percutaneous Coronary Intervention: A Network Meta-analysis of Randomized Controlled Trials *JAMA Cardiol.* 2019;4(8):747-755.
12. Vranckx P, Lewalter T, Valgimigli M y col. Evaluation of the safety and efficacy of an edoxaban-based anti-thrombotic regimen in patients with atrial fibrillation following successful percutaneous coronary intervention (PCI) with stent placement: Rationale and design of the ENTRUST-AF PCI trial. *Am Heart J.* 2018 Feb;196:105-112.
13. January CT, Wann LS, Calkins H y col. 2019 AHA/ACC/HRS Focused Update of the 2014 AHA/ACC/HRS Guideline for the Management of Patients With Atrial Fibrillation: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society in Collaboration With the Society of Thoracic Surgeons. *Circulation.* 2019 Jul 9;140(2):e125-e15.
14. Lip GYH, Collet J-P, Haude M, et al. 2018 joint European consensus document on the management of antithrombotic therapy in atrial fibrillation patients presenting with acute coronary syndrome and/or undergoing percutaneous cardiovascular interventions: a joint consensus document of the European Heart Rhythm Association (EHRA), European Society of Cardiology Working Group on Thrombosis, European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI), and European Association of Acute Cardiac Care (ACCA) endorsed by the Heart Rhythm Society (HRS), Asia-Pacific Heart Rhythm Society (APHRS), Latin America Heart Rhythm Society (LAHRS), and Cardiac Arrhythmia Society of Southern Africa (CASSA). *Europace.* 2019;21:192-3.
15. Angiolillo DJ, Goodman SG, Bhatt. DL y col. Anti-thrombotic Therapy in Patients With Atrial Fibrillation Undergoing Percutaneous Coronary Intervention: A North American Perspective-2016 Update *Circ Cardiovasc Interv.* 2016 Nov;9(11).
16. HYPERLINK "https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Capodanno%20D%5BAuthor%5D&-cauthor=true&cauthor_uid=31272556" Capodanno D, HYPERLINK "https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Huber%20K%5BAuthor%5D&-cauthor=true&cauthor_uid=31272556" Huber K,

HYPERLINK "https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Mehran%20R%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=31272556" Mehran R, y col. Management of Antithrombotic Therapy in Atrial

Fibrillation Patients Undergoing PCI: JACC State-of-the-Art Review. HYPERLINK "<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31272556>" \o "Journal of the American College of Cardiology." J Am Coll Cardiol. 2019 Jul 9;74(1):83-99.



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.

Secuenciación masiva paralela (NGS): conceptos básicos y aplicaciones

Next-Generation Sequencing (NGS):
basic concepts and applications

Jauk F.

Laboratorio de Secuenciación, Hospital Italiano de Buenos Aires

federico.jauk@hospitalitaliano.org.ar



**ROL DE NGS EN
PATOLOGÍA
MIELOIDE**

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 21-38
Octubre 2019

Palabras claves: NGS,
secuenciación,
ADN.

Keywords: NGS,
sequencing,
DNA.

Resumen

El desarrollo que se ha producido en los últimos años en el campo de la genómica ha contribuido a comprender tanto enfermedades hereditarias como neoplasias. Hoy en día, gracias al auge de la medicina de precisión, el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de gran parte de estas patologías está basado en la detección de alteraciones en el genoma. Las técnicas de secuenciación masiva paralela del ADN, conocida también como secuenciación de segunda generación (next-generation sequencing o NGS), han sido un pilar fundamental para este tipo de avances. El perfeccionamiento de las tecnologías, la estandarización de las técnicas y la reducción progresiva de los costos han hecho que este tipo de herramientas sean utilizadas cada vez con mayor frecuencia. En esta revisión se abordarán los con-

ceptos fundamentales de NGS, contemplando desde la historia que enmarca su nacimiento hasta la aplicación en ámbitos clínicos y académicos.

Abstract

The rise of genomics in recent years has contributed to understand not only hereditary diseases but also neoplasms. Today, as precision medicine plays a major role, the diagnosis, prognosis and treatment of most of these conditions is based on the detection of genomic alterations. Massive parallel sequencing of DNA, also known as next-generation sequencing or NGS, has been the cornerstone of these developments. Improvements in technology, standardization of techniques and costs reduction allowed NGS to be used as a routine tool.

In this review, basic concepts about NGS will be

approached: from the history of DNA sequencing to the application of massive parallel sequencing in both clinical and academic fields.

Introducción

Desde el descubrimiento de la estructura del ADN hasta el día de hoy han ocurrido muchos cambios en lo que respecta al estudio y conocimiento de esta molécula y de la genómica aplicada. En particular, la secuenciación, entendida como la determinación del orden de nucleótidos de una cadena de ADN, ha sido fundamental en gran parte de este proceso. La secuenciación de segunda generación (conocida como *next-generation sequencing* o *NGS* por su acrónimo en inglés), se trata de un tipo de secuenciación masiva paralela que ha surgido hace algo más de una década y ha revolucionado este campo, permitiendo obtener información genómica de cientos de miles de moléculas de ADN en un solo ensayo. La utilización de esta herramienta se encuentra en constante expansión en ámbitos académicos y asistenciales gracias al auge de la medicina de precisión: un nuevo paradigma de atención médica orientada a un rédito máximo en lo que respecta a diagnóstico y tratamiento para cada paciente.

Doble hélice, secuenciación y genoma humano

Técnicas de secuenciación

Desde la descripción de la estructura del ADN por James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins y Rosalind Franklin en 1953, la ciencia ha entrado en una carrera por el estudio de esta molécula, particularmente en el campo de la medicina, tratando de encontrar mediante su estudio una respuesta al origen del ser humano y develar los misterios sobre las dolencias que lo aquejan⁽¹⁻⁴⁾. Eventos posteriores, como la aceptación entre la comunidad científica del llamado dogma central de la biología molecular, sentaron las bases del flujo de la información entre las macromoléculas ADN, ARN y proteínas⁽⁵⁾. El desarrollo de otras técnicas, como el ADN recombinante (clonado molecular), el uso de enzimas de restricción o la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por su acrónimo en inglés) han sido consecuencia del avance del estudio del ADN y han contribuido a potenciar el mismo^(6-8,9).

El desarrollo de técnicas de “secuenciación química” por Maxam y Gilbert en 1973 hizo que por fin se pudiera conocer la secuencia ordenada de nucleó-

tidos de una molécula de ADN con relativa sencillez. Sin embargo, esta técnica utilizaba químicos tóxicos y grandes cantidades de ADN marcado con fósforo radioactivo, por lo que finalmente ha quedado en desuso⁽¹⁰⁾. El método publicado por Sanger en 1975, conocida como “secuenciación por terminadores” fue reemplazando a la de Maxam y Gilbert, y se popularizó rápidamente^(10,11). Aún hoy se utilizan los mismos fundamentos, aunque con algunas modificaciones. La técnica fue evolucionando paulatinamente, y hacia fines de los años 80 surgieron los primeros secuenciadores automatizados utilizando electroforesis capilar que, a su vez, fueron perfeccionados hasta llegar al día de hoy. La secuenciación capilar, la versión actual de la secuenciación por terminadores de Sanger, se sigue utilizando como técnica de referencia para muchos ensayos, ya que muestra una exactitud incluso superior a las nuevas tecnologías. Sin embargo, existen limitaciones que en ciertos contextos la hacen poco costo-efectiva: sólo permite secuenciar una hebra por reacción, con una longitud en general no mayor a 1000-1200 pares de bases, con dificultades para detectar variantes en baja frecuencia y con un costo relativamente superior comparada con técnicas de mayor rendimiento⁽¹²⁾.

Un método también importante, aunque quizás menos difundido en nuestro medio, es la pirosecuenciación. Descripta en 1985 por Pål Nyrén, la técnica consta de una serie de pasos enzimáticos y basa su detección en cuantificar la señal luminosa emitida tras la incorporación de un nucleótido a la cadena a secuenciar y la consecuente liberación de pirofosfato inorgánico. Esta técnica fue utilizada en los primeros secuenciadores NGS^(13,14).

Si bien la secuenciación capilar o la pirosecuenciación parecen haber llegado al punto final de su evolución, las tecnologías de NGS y TGS (*third generation sequencing en inglés*) continúan evolucionando y en los últimos años han acaparado gran parte del mercado, tanto en ámbitos académicos como asistenciales⁽¹⁵⁾.

El proyecto genoma humano (PGH)

Oficialmente fundado en 1990 con el objetivo de conocer la secuencia completa del ADN del ser humano, este proyecto fue quizás uno de los puntos de inflexión más grandes en el campo de la biología, y con un rol fundamental en el desarrollo de las cien-

cias de la salud humana. Fue dirigido inicialmente por James Watson, quien fue reemplazado por Francis Collins luego de dos años. Se sostuvo principalmente con fondos del Departamento de Energía (DOE, por su acrónimo en inglés) y el Instituto Nacional de la Salud (NIH, por su acrónimo en inglés) de Estados Unidos. En el proyecto ha participado un consorcio de 20 laboratorios de 5 países, y la estrategia elegida fue utilizar cromosomas bacterianos artificiales (BACs por su acrónimo en inglés) conteniendo insertos correspondientes a fragmentos del genoma, para secuenciar de un modo organizado y efectivo la totalidad del genoma humano. El costo total se estima en aproximadamente 3.000 millones de dólares de ese entonces (alrededor de 5.000 millones de dólares actuales ajustados por inflación)⁽¹⁶⁾. Algunas de las metas más importantes directa o indirectamente logradas por el PGH fueron: obtener la secuencia de ADN completa del genoma humano, desarrollar la tecnología disponible para secuenciar ADN y realizar ensayos de genómica funcional, obtener información sobre polimorfismos observados en la población, obtener secuencia de ADN completa de genomas de organismos utilizados en modelos de estudio de enfermedades (*E. coli*, *S. cerevisiae*, *C. elegans*, *D. melanogaster*, *M. musculus*, etc.), trabajar aspectos éticos y legales relacionados a la secuenciación, desarrollo de la bioinformática y la biología computacional, formación de recursos humanos calificados (no sólo ligados a las ciencias biológicas o el campo de la medicina, si no también a otras disciplinas: ciencia de datos, ingeniería, matemática, física, química y ciencias sociales)^(17,18).

En 1998, paralelamente al consorcio del PGH, una asociación entre las empresas privadas Celera y Applied Biosystems decidió ir por el mismo objetivo en un plazo de tan sólo 5 años, con la esperanza de concluir el proyecto antes que el consorcio público y patentar el genoma humano. Este grupo utilizó una estrategia conocida como *shotgun sequencing* (en inglés), que consiste en la fragmentación al azar del ADN en hebras de tamaño corto, para luego ser secuenciados y ensamblados al final utilizando herramientas bioinformáticas de punta para ese entonces.

En el año 2001, tanto el consorcio público como el equipo privado presentaron un borrador, mostrando una cobertura de aproximadamente un 90% del genoma humano^(19,20). Y finalmente en 2003, 50 años

después de la descripción de la doble hélice como estructura aceptada del ADN, se concluyó el Proyecto Genoma Humano, cubriendo el 99% de las 3.000 millones de bases del genoma haploide con una precisión del 99,99%, haciéndose público el acceso al mismo⁽²¹⁾. Fue notable el desarrollo de la tecnología y los conocimientos adquiridos en ciencias biológicas y médicas.

A partir del PGH se han realizado muchos otros proyectos relacionados, cuyos objetivos van desde conocer la función de los genes, evaluar variabilidad entre individuos, estudiar relaciones entre variantes de secuencia y enfermedades, etc., etc. Podríamos citar algunos de ellos: *Encode*, *HapMap*, *The Cancer Genome Atlas*, *1000 Genomes Project*, etc.⁽²²⁻²⁵⁾. Sin dudas, este tipo de iniciativas internacionales a gran escala fueron primordiales para el desarrollo, perfeccionamiento y acceso de técnicas de secuenciación masiva de alto rendimiento.

Secuenciación de segunda generación

El conocimiento creciente del genoma humano, del funcionamiento de genes y de la asociación entre alelos patogénicos y diverso tipo de enfermedades hizo que la tecnología disponible hasta el momento no pudiera suplir en tiempo y forma las necesidades académicas y asistenciales crecientes. El contexto que hemos revisado previamente llevó a los principales actores de la industria biotecnológica a desarrollar técnicas e instrumentos con los cuales se logre la secuenciación paralela de miles de millones de moléculas de ADN, consumiendo menor cantidad de tiempo y dinero.

La secuenciación denominada NGS, es considerada la segunda generación en lo que respecta a la secuenciación del ADN (la primera generación se refiere a la secuenciación Sanger). Veremos que, en realidad, se trata un conjunto de técnicas de alto rendimiento que comparten fundamentos básicos, en las cuales se obtienen grandes cantidades de información genómica para responder en última instancia a interrogantes que se generan desde la investigación o el diagnóstico clínico.

Historia

El nacimiento y desarrollo de NGS se tradujo en un cambio de paradigma en el ámbito de la secuenciación: lo que al consorcio público del PGH le costó 10 años y 5.000 millones de dólares, en algo más

que una década se pudo lograr en un flujo de trabajo de tan sólo algunos días por algo menos de 1000 de dólares⁽²⁶⁾. A continuación se mencionan las técnicas más relevantes vinculadas a la historia de la tecnología de NGS.

El secuenciador GS20 de 454 Life Sciences, lanzado al mercado en 2005, se podría considerar como el primer secuenciador NGS con éxito comercial. Su flujo de trabajo se basaba en amplificación clonal de la biblioteca basada en PCR en emulsión para generar el templado, y luego múltiples reacciones paralelas tipo pirosecuenciación. La emisión de luz resultante era captada, procesada y convertida en información genómica. Con este instrumento se logró, por ejemplo, concluir la secuenciación del genoma de James Watson en 2007 y el Proyecto del Genoma del Neandertal en 2009. Esta compañía fue posteriormente adquirida por Roche, y con el tiempo dejó de producir unidades^(13,27,28).

Utilizando un concepto similar, aunque reemplazando la detección vinculada a emisión lumínica por detección de cambio de pH en un semiconductor (chip), se ideó la técnica extendida por Ion Torrent desde 2010. Esta tecnología, desarrollada por el ex-fundador de 454 Life Sciences, utiliza también PCR en emulsión para amplificación clonal del templado, pero basa su etapa de secuenciación en la medición de la reducción de pH que se origina en cada pocillo del chip semiconductor al adicionarse un nucleótido y liberarse un protón (ion hidrógeno, H⁺) (ver luego). Este tipo de equipos tienen la capacidad para secuenciar de un modo muy veloz y eficaz aunque, al igual que las plataformas 454, presentan dificultades para interpretar homopolímeros de cierta longitud^(13,27,29).

La técnica desarrollada por Life Technologies desde 2006 fue denominada SOLiD (acrónimo de *Sequencing by Oligonucleotide Ligation and Detection*). Como su nombre lo indica, se basaba en reacciones de ligación y no en polimerización como los otros métodos. El costo de esta tecnología era relativamente bajo comparado con las otras disponibles a la fecha. Sin embargo, las lecturas eran demasiado cortas, y el tiempo de secuenciación y procesamiento de los datos muy extenso. Posteriormente la técnica quedó en desuso^(13,27,30).

Por último, una técnica de secuenciación masiva muy importante y distinta a las citadas anteriormente fue la utilizada y popularizada por Solexa, una

compañía fundada en Reino Unido en 1998⁽³¹⁾. La misma consistía en la secuenciación por síntesis con terminadores fluorescentes reversibles. Las bibliotecas eran amplificadas en una celda de flujo mediante un proceso llamado PCR puente (bridge-PCR en inglés) formando grupos o *clusters*. Al momento de secuenciar, dada la adición de nucleótidos terminadores fluorescentes reversibles durante cada flujo, se genera una señal al tiempo que la cadena se elonga (ver luego). En 2007, Illumina adquirió Solexa y, adoptando el mismo fundamento, desarrolló secuenciadores de mayor escala, más veloces y capaces de leer fragmentos de mayor tamaño^(13,27,32). Con el correr de los años, otras compañías desarrollaron plataformas de secuenciación NGS con fundamentos similares a algunas de las descritas previamente, aunque hoy en día el mercado está dominado por secuenciadores Illumina, seguidos por Ion Torrent. Las plataformas de NGS de otros fabricantes se encuentran menos representadas.

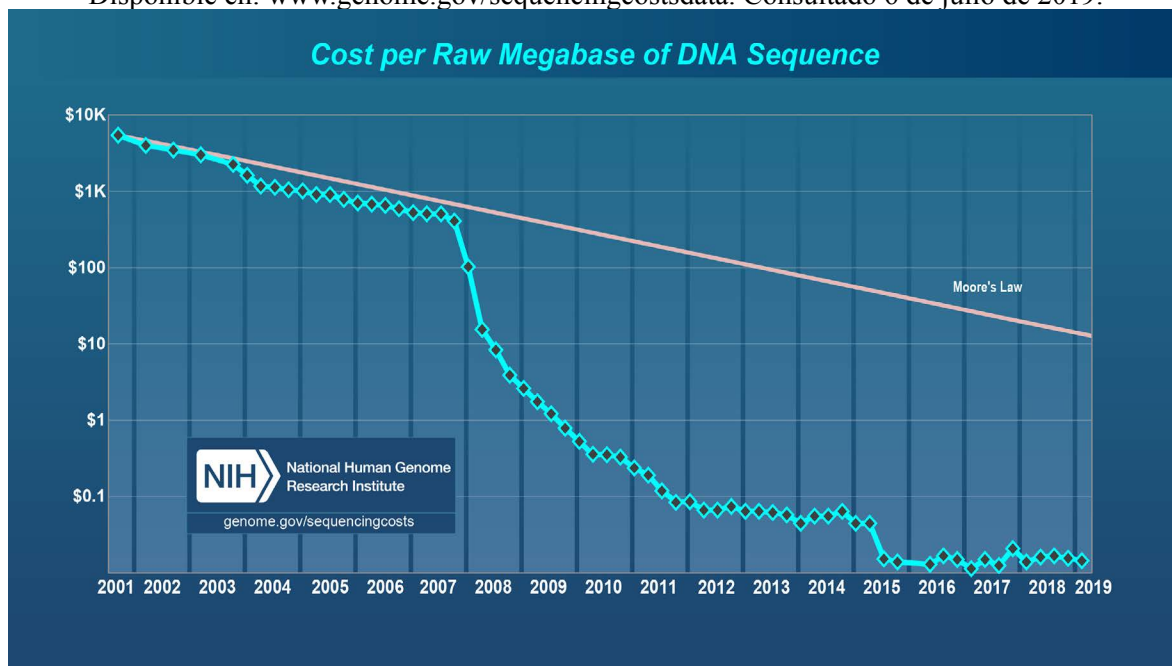
Podemos ver, entonces, que dentro de lo que denominamos NGS se encuentran diferentes tecnologías con un concepto similar. Los grandes avances en la bioinformática y en la capacidad de cálculo de computadoras y servidores ha sido un respaldo muy importante para el desarrollo de secuenciadores de mayor escala y más rápidos. Un dato muy interesante, de la mano de la mejora continua en el desarrollo de NGS, indica que entre 2005 y 2010, el costo de la secuenciación (costo por base) se ha ido reduciendo a la mitad cada 5 meses⁽²⁶⁾. Esta tendencia se ha desacelerado en los últimos años, aunque continúa descendiendo (ver Figura 1). Esto favorecería el acceso a este tipo de tecnologías alrededor del mundo.

Utilidad en la clínica e investigación

La secuenciación NGS es por sí sola una herramienta, y desde su nacimiento se ha empleado con distintos objetivos. Existen diferentes abordajes utilizados comúnmente para el estudio de numerosas patologías, ya sea desde el punto de vista académico o asistencial.

A nivel del ADN, se pueden estudiar el genoma completo, exoma completo o paneles de genes. Según el diseño del ensayo, existe la posibilidad de obtener información sobre variantes de nucleótido único (sustituciones, *single nucleotide variants* o *SNVs* en inglés), inserciones o deleciones (también llamadas indels), y grandes rearrreglos (deleciones,

Figura 1. Costos de secuenciación cruda (por megabase). Con permiso de: Wetterstrand KA. DNA Sequencing Costs: Data from the NHGRI Genome Sequencing Program (GSP). Disponible en: www.genome.gov/sequencingcostsdata. Consultado 6 de julio de 2019.



duplicaciones o amplificaciones de grandes fragmentos de genes, *copy number variation* o *CNV* en inglés).

Secuenciación del genoma completo

El estudio de todas las regiones codificantes y no codificantes dentro del genoma se denomina secuenciación del genoma completo (*Whole genome sequencing* o *WGS* en inglés). Una de sus ventajas es que la preparación de las bibliotecas es relativamente simple ya que no requiere pasos de enriquecimiento⁽³³⁾.

Si bien intuitivamente la secuenciación del genoma completo parece ser la estrategia más completa, hoy por hoy es poco costo-efectiva, dado que por un lado no brinda mucha más información clínicamente relevante que la secuenciación del exoma (ver luego), se obtienen una inmensa cantidad de información (difícil de analizar y almacenar), brinda un sinnúmero de variantes de significado incierto, y el costo es más elevado que los abordajes dirigidos debido a la cantidad de bases secuenciadas⁽³⁴⁾. A esto se suma la dificultad en el mapeo en regiones del genoma de referencia debido a la gran cantidad de secuencias repetitivas que presenta el genoma humano. La profundidad de secuenciación es, en gene-

ral, baja comparada con la secuenciación dirigida⁽³⁵⁾. Sin embargo, gracias a este tipo de ensayos durante las etapas de iniciales del desarrollo de la tecnología NGS, se han generado numerosas asociaciones entre variantes de secuencia en genes y patologías, ya se trate de enfermedades de herencia mendeliana, mitocondriales, neoplasias, etc^(34,35).

Secuenciación del exoma

La secuenciación del exoma completo (*whole exome sequencing* o *WES* en inglés) es un tipo de secuenciación dirigida donde se enriquece aproximadamente 1 al 2% del genoma humano. Está orientado a obtener la información genómica de los exones (las regiones codificantes) de los casi 20.000 genes, cubriendo aproximadamente un 85% de las variantes que causan enfermedades hereditarias, principalmente monogénicas⁽³⁴⁾.

El exoma clínico (*clinical exome sequencing* o *CES* en inglés) también es muy utilizado hoy en día. Se estudia la región codificante de alrededor de 5.000 genes con relevancia clínica, aunque en ocasiones resulta insuficiente para algunos pacientes, debido a la representación incompleta del exoma^(36,37).

La secuenciación del exoma es de utilidad para la detección de variantes conocidas en genes relacio-

nados a enfermedades genéticas y también en el descubrimiento de nuevas variantes asociadas con patologías⁽³⁵⁾. Tanto es así que, utilizando técnicas de WGS y WES, se ha aumentado la cantidad de genes asociados a enfermedades en casi un 90% sólo desde 2007 a 2013 (ver Tabla 1)⁽³⁸⁾. Estas estrategias fueron también importantes en el descubrimiento de mutaciones recurrentes en el estudio de neoplasias, tanto en tumores sólidos como hematológicos, y han contribuido significativamente en la detección de mutaciones conductoras (*driver mutations* en inglés) y en el desarrollo de terapias dirigidas, y posteriormente en el diseño de paneles de genes según patologías⁽³⁴⁾.

Paneles de genes

Otro abordaje de secuenciación dirigida popularmente empleado es el estudio de paneles de genes. En general se estudia un número acotados de genes o regiones de genes importantes asociados a la patología en cuestión. En el estudio de enfermedades hereditarias se utilizan cuando las patologías son relativamente frecuentes y cuyo fenotipo puede estar explicado por variantes de secuencia en un número limitado de regiones genómicas. Existen gran cantidad de paneles comerciales basados en distintas estrategias de enriquecimiento, e incluso muchas compañías ofrecen opciones personalizables donde el usuario escoge las regiones de genes deseadas para su propósito⁽³⁹⁾.

El estudio de tumores en búsqueda de mutaciones somáticas suele ser algo más complejo que la patología germinal, ya que en el tejido tumoral coexisten células tumorales con células normales. A su vez, las células tumorales pueden presentar trastornos de la ploidía, coexistencia de mutaciones conductoras o mutaciones pasajeras, subclones tumorales, etc. Para el estudio de neoplasias, los paneles son utili-

zados de un modo habitual, ya que cubren regiones en las que se pueden observar mutaciones recurrentes. Además, al ser acotados, permiten una profundidad de secuenciación muy elevada con el objeto de reconocer variantes somáticas en baja frecuencia, a la vez que agilizan el procesamiento bioinformático y la posterior interpretación de los resultados⁽³⁵⁾. El objetivo de los paneles en oncología es brindar valor diagnóstico, pronóstico, predictivo, y de seguimiento⁽⁴⁰⁻⁴²⁾.

Los paneles comerciales destinados al estudio de neoplasias pueden focalizarse en la secuenciación de ADN, ARN (ver luego) o una combinación de ambos, y exhiben técnicas de enriquecimiento diversas.

Otras técnicas basadas en ADN

Algunos abordajes menos frecuentes, utilizados fundamentalmente en investigación son los estudios de metilación (dirigida vs. metiloma completo), estudio de unión proteína-ADN (ChIP-Seq), entre otros⁽⁴³⁻⁴⁵⁾.

Secuenciación del ARN

Existen también métodos de estudio del ARN por NGS. En estos casos, el ARN es convertido a ADN copia (denominado *cDNA* en inglés) por medio de una retrotranscripción, antes de poder ser secuenciado. Los métodos de secuenciación del transcrito completo brindan información útil para obtener un perfil de expresión de virtualmente todos los transcritos de ARN (ARN mensajero), estudiar la secuencia codificante (similar al exoma, pero restringido a genes expresados en ese tejido en particular), o bien para evaluar empalmes alternativos en la muestra en cuestión⁽⁴³⁾.

Otra opción es la secuenciación de ARN dirigida, donde se enriquece la muestra para representar los

Tabla 1. Fenotipos para los cuales existe una base molecular conocida (base de datos OMIM, 2007 y 2013). Adaptado de: Koboldt DC, Steinberg KM, Larson DE y cols. The next-generation sequencing revolution and its impact on genomics. Cell. 2013;155:27-38.

<i>Patrón de herencia</i>	<i>Enero 2007</i>	<i>Julio 2013</i>
Autosómica	1851	3525
Ligada al cromosoma X	169	277
Ligada al cromosoma Y	2	4
Mitocondrial	26	28
Total	2048	3834

transcriptos de interés y así evaluar su expresión relativa. Los perfiles de expresión de ARN, pueden brindar información valiosa acerca de activación de vías de señalización. Un tipo de estudio que ha cobrado relevancia es el perfil de expresión de los microARNs (llamado miRNoma), con especial foco en regulación de vías de señalización en el cáncer⁽⁴³⁾. Otra estrategia muy utilizada tomando como punto de partida el ARN es aquella que se utiliza para determinar presencia de fusiones génicas (translocaciones) en aquellos casos que la misma genera una proteína quimérica. Debido a que generalmente los puntos de ruptura y empalme entre genes fusionados se encuentran en regiones intrónicas profundas y son muy variables, se han desarrollado estrategias a partir de ARN para poder detectar uniones exón-exón entre dos genes (ej: BCR-ABL1, EML4-ALK, etc.)⁽⁴⁶⁻⁴⁸⁾.

Microorganismos

El uso de NGS en el ámbito de la salud humana no se ha limitado sólo a la secuenciación del genoma humano o alguna de sus regiones. La herramienta puede ser también utilizada para secuenciar prácticamente todo tipo ADN y/o ARN de microorganismos en muestras de origen humano (sangre, colecciones, heces, tumores, etc.).

El reconocimiento de agentes infecciosos puede ser útil para el diagnóstico y tratamiento. Otra aplicación importante es el estudio del genoma de la microbiota residente en intestino, piel y otras localizaciones (microbioma), pudiendo reconocer presencia y abundancia relativa de diversos microorganismos, lo que en ocasiones está asociado al desarrollo de ciertas patologías⁽⁴⁹⁾.

Tipos de muestra

Habitualmente, el ADN obtenido para estudiar enfermedades hereditarias (patología germinal) proviene de leucocitos de sangre periférica, representando el genoma del individuo. Sin embargo, las muestras pueden ser diversas y se puede obtener ADN de cualquier tejido o fluido corporal: hisopados bucales, líquido amniótico, vellosidades coriónicas, líquido cefalorraquídeo, muestras de tejido fresco, etc. En el caso de estudio de patología somática (en neoplasias), frecuentemente se utiliza ADN y/o ARN extraído de sangre periférica o médula ósea en tumores hematológicos, o de tejido fijado

en formalina e incluido en bloques de parafina cuando se trata de tumores sólidos. En los últimos años se ha experimentado un incremento del estudio de lo que se denomina biopsia líquida, donde se puede obtener ADN tumoral a partir de cualquier fluido, siendo el estudio de ADN libre de células en plasma el más frecuente, seguido por células tumorales circulantes y exosomas o pequeñas vesículas⁽³⁹⁾.

Flujo de trabajo de NGS

Habiendo repasado los conceptos básicos de NGS, se describirán las cuestiones operativas. De forma esquemática, se mencionan a continuación distintas formas de enriquecimiento del blanco de estudio, el concepto general de preparación de bibliotecas, y por último la amplificación del templado y secuenciación en las plataformas más prevalentes en el mercado: Illumina y Ion Torrent.

Preparación de bibliotecas (*library preparation en inglés*)

Un punto que se ha mencionado previamente, pero que merece ser explicado con cierto detalle, es la preparación de las bibliotecas. Ya sea para la secuenciación del genoma completo o técnicas de secuenciación dirigida, el objetivo está orientado a la obtención de fragmentos cortos de ADN, que varían según las plataformas utilizadas, pero habitualmente rondan entre 150 y 400 pares de bases. Dependiendo de la estrategia, la preparación de las bibliotecas puede realizarse antes o después del enriquecimiento. La misma consiste en la adición de adaptadores a ambos extremos de cada uno de los millones de fragmentos de ADN a secuenciar (conocidos con el nombre de inserto). Además, en esta etapa se pueden añadir etiquetas (secuencias establecidas de ADN para diferenciar cada muestra, llamados habitualmente códigos de barra de la muestra [*sample barcodes* en inglés]), por lo que en un mismo ensayo se pueden combinar múltiples muestras sin riesgo de entrecruzamiento entre las mismas⁽³⁹⁾. Los adaptadores son específicos para cada plataforma de secuenciación: se trata de fragmentos de ADN de doble cadena con secuencias consenso donde se alinean los cebadores para las etapas de amplificación del templado (ya sea por PCR-puente o PCR en emulsión, según plataforma) y los cebadores para la secuenciación propiamente dicha⁽³⁵⁾.

Este punto probablemente sea una de las claves de

NGS: la obtención de fragmentos flanqueados por adaptadores con secuencias específicas permite que sea posible realizar millones de reacciones a la vez para obtener la secuencia de cada inserto⁽⁴⁰⁾.

Enriquecimiento del blanco (*target enrichment* en inglés)

Como se ha mencionado anteriormente, las técnicas de WGS no requieren enriquecimiento, pero sí fragmentación. Dicho proceso puede ser por medio de sonicación o bien enzimático. Una vez fragmentado el ADN, se seleccionan aquellas hebras de un rango de tamaño adecuado según la estrategia de secuenciación.

En cambio, para desarrollar cualquier protocolo de secuenciación dirigida, es necesario enriquecer las regiones de interés a la vez que se separa el resto del ADN genómico. A lo largo de los años se han perfeccionado una serie de métodos para aislar positivamente regiones de interés. Estos se podrían englobar en dos grupos mayoritarios: enriquecimiento basado en captura y enriquecimiento basado en PCR^(40,50). Aunque existen numerosas variantes de cada uno de ellos, se describirán a continuación de un modo general.

En cuanto al enriquecimiento basado en captura (ver Figura 2), se fragmenta el ADN de la muestra (ya sea por sonicación o por métodos enzimáticos) para obtener fragmentos de ADN cortos. Luego de preparar las bibliotecas con dichos fragmentos, ésta se hibrida con sondas de ADN o ARN complementarias a las regiones de interés. En un principio se utilizaron micromatrices (*microarrays*) donde las sondas con secuencias complementarias se encontraban en una fase sólida, pero posteriormente fueron reemplazadas por sondas en solución líquida, que han ganado en última instancia mayor popularidad^(51,52). Cabe mencionar que las sondas en solución se encuentran marcadas (con biotina, por ejemplo) y, por lo tanto, pueden capturarse (con perlas magnéticas con avidina, por ejemplo), para terminar descartando todas las secuencias indeseadas que no se han hibridado⁽⁵²⁾. Este método suele ser un poco más costoso y consumir más tiempo que los que se describirán luego, pero tiene la ventaja de ser capaz de enriquecer mayor cantidad de regiones (mejor funcionalidad en exomas o grandes paneles de genes), además de eliminar la amplificación por PCR, un paso que podría introducir errores en la amplificación, ya que las polimerasas habitualmente cuentan con una tasa

de error de entre 5×10^{-4} y $5,3 \times 10^{-7}$ bases^(40,53).

En cuanto a las técnicas de PCR multiplex (ver Figura 3), se utilizan múltiples cebadores (*primers*) específicos en una misma reacción para enriquecer las regiones de interés generando amplicones de tamaño corto. Posteriormente se completa la preparación de bibliotecas. Éste es un método costo-efectivo, menos laborioso, se obtienen menos secuencias mapeadas fuera de la región de interés (denominadas *off-target* en inglés) y requiere menos tiempo que el anterior. Por otro lado, cuenta con pasos de amplificación por PCR, y su potencial fuente de errores, como también la posibilidad de caída o falta de la amplificación (*allele-dropout* o *null allele* en inglés) cuando se encuentren mutaciones o variantes de secuencia en las regiones de apareamiento de los cebadores⁽⁵⁴⁾. Esta última falencia puede mejorarse e incluso eliminarse con modificaciones en el diseño de los amplicones, teniendo en cuenta variantes habituales en las regiones de interés. Por otra parte, la utilización de los denominados “códigos de barra moleculares” (*molecular barcodes*, *unique identifiers* o *primer IDs* en inglés; no confundir con los códigos de barra de la muestra -*sample barcodes*- de las bibliotecas) en la etapa de enriquecimiento hace que las lecturas con errores vinculados a la polimerasa puedan eliminarse bioinformáticamente, y que además se filtren duplicaciones de lecturas^(40,55-57).

En los últimos años también se han desarrollado técnicas basadas en microfluídica asociada a PCR en emulsión para el enriquecimiento de regiones genómicas de interés. Este tipo de método está también basado en PCR, pero en la práctica funciona como millones de reacciones independientes y paralelas, en contraposición con la PCR multiplex^(40,50,58).

En ocasiones, según la interpretación, se puede incluir a un tercer grupo, llamado de captura por circularización, donde el principal exponente son las sondas moleculares invertidas (*molecular inversion probes* en inglés). Se trata de una estrategia de hibridación combinada posteriormente con PCR para amplificar y enriquecer el blanco^(57,59).

Amplificación del templado y secuenciación masiva paralela

Tanto las plataformas de Illumina como de Ion Torrent utilizan las bibliotecas como templado de secuenciación, y necesitan de la amplificación del mismo para alcanzar la cantidad de señal necesaria

Figura 2. Enriquecimiento del blanco basado en captura: El ADN es fragmentado en segmentos cortos (A). Posteriormente se añaden adaptadores (rojo y verde) (B) que se unen a los fragmentos de ADN para lograr la construcción de la biblioteca (C). Luego se hibrida la biblioteca con sondas complementarias a las regiones de interés (azul) (D). Las sondas se encuentran marcadas con biotina (amarillo) y pueden ser capturadas por medio de perlas magnéticas recubiertas con avidina (unión avidina-biotina) (E). Por último, mediante un imán se capturan las perlas magnéticas y se obtiene una biblioteca que contiene sólo fragmentos de ADN representando regiones de interés (F).

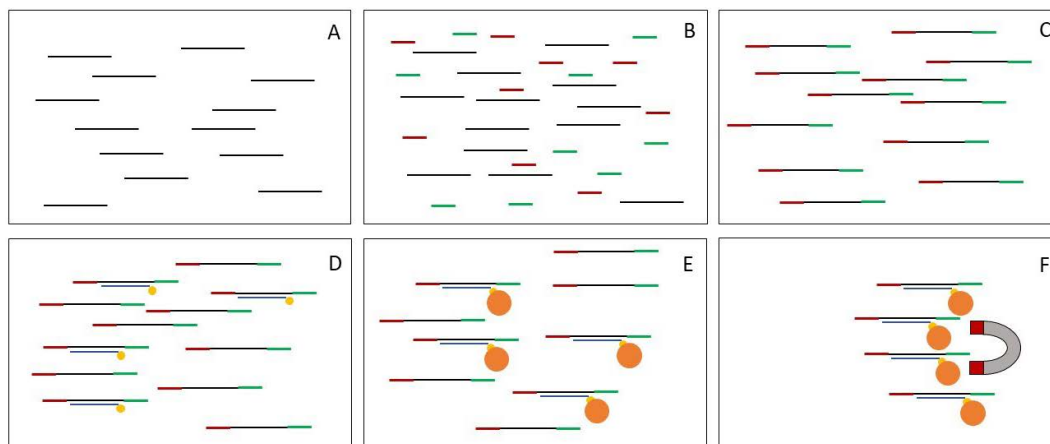


Figura 3. Enriquecimiento del blanco basado en amplicones (PCR multiplex): Las regiones de interés son amplificadas a partir de ADN genómico (doble hebra, color negro) por medio de cebadores específicos (flechas de color azul, rojo, verde) (A). Se obtienen así múltiples copias de las regiones amplificadas (doble hebra color azul, rojo, verde) (B). Luego se añaden los adaptadores para la construcción de la biblioteca (amarillo y violeta) (C). Posteriormente, la biblioteca es purificada para eliminar ADN genómico y los dímeros de adaptadores (D).

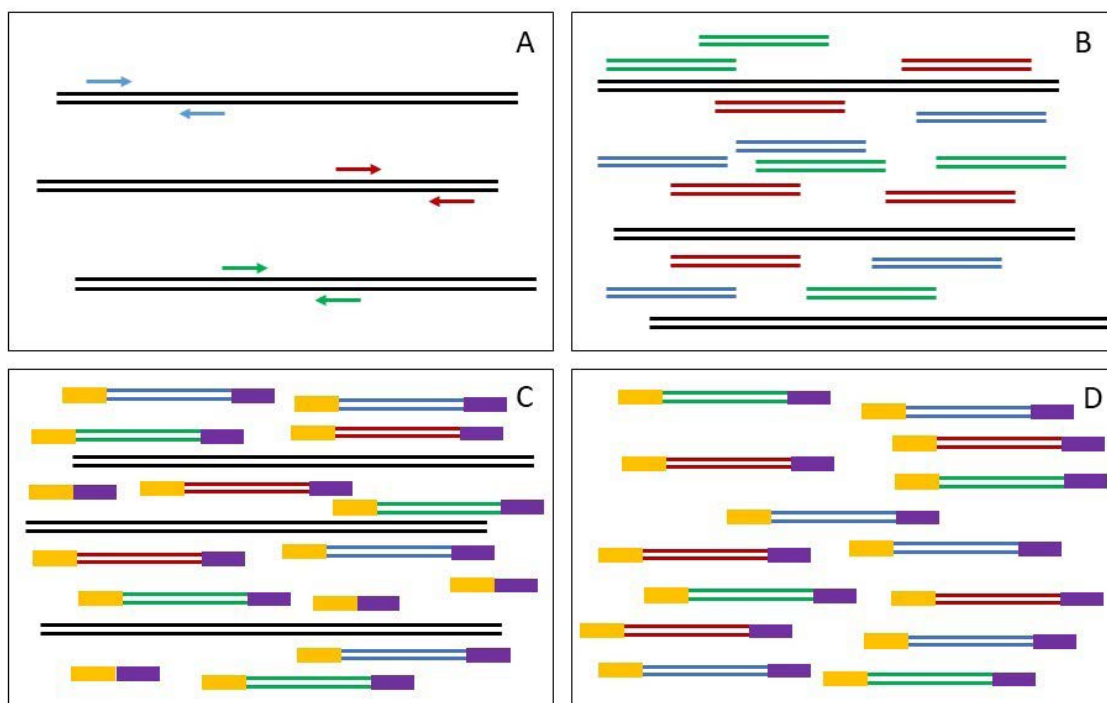
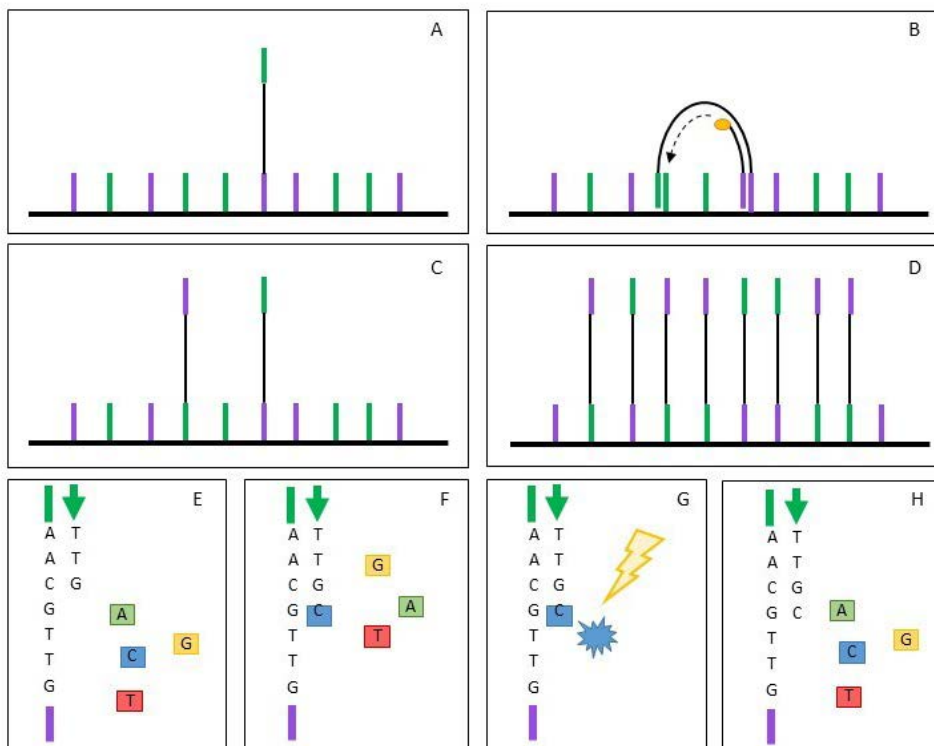


Figura 4. Secuenciación en plataformas Illumina.

Luego de la preparación de la biblioteca se realiza amplificación de grupos (*clusters*) en celda de flujo (A a D). La biblioteca es diluida y cargada en la celda de flujo de modo que cada hebra de ADN se une a la celda de flujo por medio de hibridación de los adaptadores (verde y violeta) con oligonucleótidos complementarios a los mismos (unidos al soporte sólido). Mediante una reacción de polimerización se genera una copia del inserto desde el oligonucleótido unido al soporte sólido (A). Posteriormente se genera la PCR-puente: el fragmento se curva y el adaptador del extremo libre se une a un oligonucleótido complementario anclado al soporte sólido. Mediante otra reacción de polimerización (B) se obtiene una segunda hebra complementaria a la inicial (C). El proceso se repite hasta generar un grupo (*cluster*) a partir de la hebra primaria. La generación del grupo facilita la detección por medio de fluorescencia.

La secuenciación propiamente dicha (secuenciación por síntesis) (E a H) se genera a partir de cebadores específicos para los adaptadores (flecha verde). En cada flujo, los nucleótidos marcados con fluorescencia (terminadores reversibles) compiten por elongar la cadena de ADN (E) y se une a ella sólo aquel complementario a la hebra molde (F). El resto de los nucleótidos es eliminado, y una fuente lumínica excita el fluoróforo del nucleótido añadido (G). La señal es recolectada por un dispositivo CCD para luego ser analizada. El ciclo vuelve a repetirse con un nuevo flujo para incorporar otro nucleótido a la cadena (H).



según la sensibilidad del método de detección.

En plataformas Illumina (ver Figura 4), las bibliotecas son cargadas en una celda de flujo.

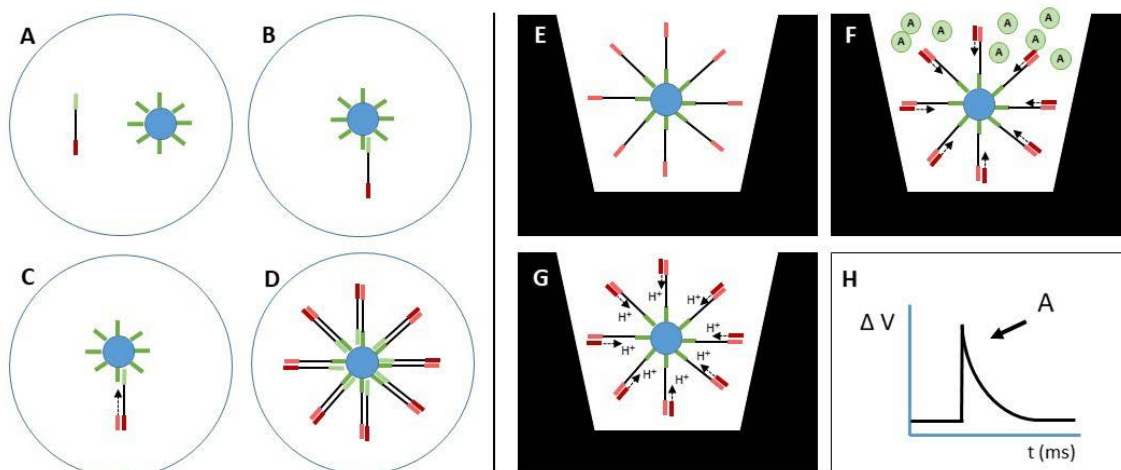
Cada inserto de la biblioteca es amplificado clonalmente por medio de una PCR-puente, para generar un grupo o *cluster* unido al soporte sólido, que se utilizará como templado. Posteriormente se produce la secuenciación por síntesis con terminadores reversibles, donde en cada flujo sucesivo de nucleótidos terminadores (marcados con fluorescencia), los mismos compiten para elongar la cadena. Debido a

la presencia de terminadores, sólo se puede añadir un nucleótido por ciclo. El nucleótido incorporado es excitado y su emisión lumínica es registrada por un dispositivo óptico. Luego, el fluoróforo y el terminador se clivan y comienza un nuevo ciclo. Posteriormente, las imágenes obtenidas de cada grupo (*cluster*) son procesadas para generar el llamado de bases (*base calling* en inglés) y obtener la secuencia de cada una de las lecturas. El proceso de secuenciación se realiza en ambos sentidos (desde ambos adaptadores), por lo que se obtienen lecturas de ex-

Figura 5. Secuenciación en plataforma Ion Torrent.

La PCR en emulsión (A a D) consiste en millones de reacciones de PCR ocurriendo simultáneamente en micelas contenidas en una emulsión. En cada micela se disponen sólo una hebra de ADN (inserto - color negro) flanqueada por adaptadores (verde claro y rojo), y una perla con secuencias complementarias a uno de los adaptadores (verde oscuro) (A). La hebra de ADN se une por complementariedad a la perla (B). Mediante cebadores específicos complementarios al adaptador libre (rojo claro) se generan ciclos de amplificación clonal (C) para obtener una perla con múltiples copias del mismo fragmento de ADN inicial (D).

La secuenciación por semiconductor (E a H) se realiza luego de romper la emulsión, enriquecer las perlas amplificadas clonalmente y cargarlas en el chip semiconductor. Cada una de las perlas alcanza un pocillo en el chip (E). A partir de cebadores complementarios al adaptador del extremo libre se realizan flujos de un nucleótido en particular (en el ejemplo se observa una adenina) (F). Si el nucleótido correspondiente a ese flujo es añadido a la cadena por complementariedad con la hebra molde, se libera un protón (H^+) al generarse la reacción de polimerización (G). La liberación de protones en el pocillo causa un cambio de pH que luego se traduce a un cambio de voltaje y genera la señal cruda de secuenciación (H). Si existiesen homopolímeros, la adición de más de un nucleótido incrementaría el cambio de voltaje de manera proporcional.



tremos pareados (o *paired-end reads* en inglés)⁽³⁹⁾. En las plataformas Ion Torrent (ver Figura 5), se genera una PCR en emulsión con perlas para amplificar clonalmente cada hebra de la biblioteca. Luego de romper la emulsión y enriquecer las perlas recubiertas de ADN clonalmente amplificado (templado), éstas son cargadas en un chip (semiconductor) que contiene millones de pocillos. De un modo óptimo, cada perla se alojará dentro de un pocillo. Durante la reacción de secuenciación por semiconductor se observan flujos secuenciales de cada uno de los nucleótidos sobre el chip. Al incorporarse un nucleótido a la cadena, se genera la liberación de un protón (ion hidrógeno). El cambio de pH se traduce a una señal eléctrica (cambio de voltaje), indicando que en ese flujo fue añadido el nucleótido en cuestión. Si durante un flujo no se adiciona un nucleótido, no existe diferencia de pH y por lo tanto tampoco señal eléctrica. La señal eléctrica captada de cada pocillo

es el dato crudo necesario para obtener la secuencia de cada lectura. La secuenciación en plataformas Ion Torrent genera lecturas en un solo sentido (llamadas *single-end reads*)⁽³⁹⁾.

Tanto Illumina como Ion Torrent presentan una serie de secuenciadores de distinta escala y capacidad de procesamiento. Además, cada uno de los instrumentos tiene capacidad para distintas celdas de flujo o chips semiconductores. De esta forma, se puede elegir la estrategia más adecuada para cada intención de uso⁽³⁹⁾.

Procesamiento de datos

Una parte primordial del flujo de trabajo en NGS es el procesamiento bioinformático de los datos de secuenciación. Comienza con la señal cruda obtenida por el secuenciador y finaliza con la interpretación de las variantes según el objetivo que persiga el ensayo.

Aunque *a priori* puede parecer sencillo, este tipo de procesamiento y análisis consume una cantidad variable de tiempo (de horas a días), a la vez emplea gran cantidad de recursos en computadoras y servidores. Los archivos intermedios y finales del procesamiento ocupan un espacio de almacenamiento considerable (desde MB a varios GB). Para el estudio de variantes puntuales (SNVs) e inserciones o deleciones (indels) a nivel de ADN, el mismo consta de una serie de procesos concatenados denominados análisis primario, secundario y terciario. A este flujo de trabajo bioinformático se lo denomina habitualmente tubería o *pipeline* bioinformático (por su nombre en inglés).

El análisis primario consta de la conversión de la señal cruda obtenida por el secuenciador en millones de secuencias cortas de ADN, correspondientes a las llamadas lecturas (*reads* en inglés). Las lecturas pasan a ser la unidad de análisis del procesamiento bioinformático y cada una de ellas se corresponde con un inserto de la biblioteca. Por lo general este paso es generado por el instrumento de forma automática, y su archivo resultante es habitualmente un archivo FASTQ. Este tipo de archivos contienen la secuencia de cada una de las lecturas obtenidas, con un valor de calidad para cada nucleótido (*Phred score*)^(33,39,60,61).

El análisis secundario consta de una serie de pasos de control de calidad, recorte o eliminación de lecturas de baja calidad, mapeo de cada lectura a la secuencia de referencia, alineamiento local y llamado de variantes. El mapeo de las lecturas emite un archivo llamado SAM (*Sequence Alignment/Map*) que luego es comprimido en forma binaria a BAM (*Binary Alignment/Map*). La información contenida en estos archivos puede ser visualizada por el programa IGV (*Integrative Genomic Viewer*) u otra herramienta de visualización genómica, mostrando la secuencia, mapeo y alineamiento de cada una de las lecturas⁽⁶²⁾.

A partir de este tipo de archivos intermedios y luego de aplicar ciertos algoritmos por parte de una serie de herramientas bioinformáticas, se logra por fin el llamado de variantes en archivo VCF (*Variant Call Format*), un archivo de texto delimitado por tabulaciones que incluye: genoma de referencia, coordenadas cromosómicas de la variante, tipo de cambio de secuencia, valores de calidad del llamado de variantes, etc. En este archivo son lla-

madadas todas las variantes que muestran alguna diferencia con el genoma de referencia, sin que esto signifique estrictamente patogenicidad^(33,39).

El análisis terciario se realiza a partir del llamado de variantes. Consiste en la anotación y el filtrado de cada una de las variantes según el objetivo del análisis. La anotación se basa en la utilización de bases de datos y puede incluir información genómica (gen, exón, variante en secuencia codificante y en la proteína, etc.), información funcional, frecuencia poblacional de la variante, predicciones bioinformáticas de patogenicidad, información fenotípica o clínica vinculada a la variante, etc. (ver Tabla 2)^(33,39). Por último, el filtrado de las variantes se puede realizar a partir de los elementos anotados, de esta forma se le asigna un valor clínico a cada una de ellas. Existen algunos criterios y recomendaciones internacionales para interpretar y reportar variantes germinales y somáticas⁽⁶³⁻⁶⁶⁾. En nuestro país existe un consenso para reportar variantes asociadas a cáncer hereditario⁽⁶⁷⁾.

Dos conceptos importantes de ser aclarados son la cobertura y la profundidad de un ensayo. La cobertura (también entendida como cobertura horizontal o *coverage breadth* en inglés) se refiere a la cantidad de información genómica representada por las lecturas obtenidas en el ensayo contra una referencia. La referencia depende de la estrategia utilizada y puede ser el genoma completo, exoma, paneles de genes, etc. En general la cobertura se expresa como el porcentaje de lecturas mapeadas contra la referencia esperada. Mientras mayor sea el porcentaje, mejor representado está el blanco de nuestro ensayo. Sin embargo, a lo largo del genoma humano existen ciertas zonas dificultosas de enriquecer o secuenciar, y la cobertura puede reducirse. El concepto de fuera de diana (*off-target*) se interpreta como el porcentaje de las lecturas que se encuentran fuera del blanco de enriquecimiento. Es ADN secuenciado no informativo para el ensayo. En general el fuera de diana es mayor en estrategias de captura⁽⁶⁸⁾.

La profundidad (también interpretada como cobertura vertical o *coverage depth* en inglés) se refiere a la cantidad de lecturas mapeadas que representan un mismo locus, o vulgarmente hablando: muestra cuántas veces fue secuenciado un locus en particular. La profundidad se expresa en x (ej: 50x significa que el locus en particular fue cubierto por 50 lecturas). La secuenciación de patología somática en

Tabla 2. Bases de datos habitualmente utilizadas para anotación e interpretación de variantes.

Tipo de base de datos	Nombre	Sitio WEB
Referencias genómicas	NCBI Genome	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome
	RefSeqGene	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/rsg
	UCSC table browser	https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTables
	Ensemble BioMart	http://useast.ensembl.org/biomart/martview
Poblacionales	Exome Aggregation Consortium (ExAC)	http://exac.broadinstitute.org/
	gnomAD browser	http://gnomad.broadinstitute.org/
	1000 genomes	http://www.internationalgenome.org/
	Exome server project	http://evs.gs.washington.edu/EVS/
Patología hereditaria	ClinVar	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/
	dbSNP	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/
	NCBI genetic testing registry	https://www.genetests.org
	Leiden Open Variant Database (LOVD)	http://www.lovd.nl/3.0/home
	Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM)	https://www.omim.org/
	Locus Specific Mutation Databases	http://grenada.lumc.nl/LSDB_list/ls-dbs
	Human Gene Mutation Database (HGMD)	http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php
	Ensemble Variant Effect Predictor	http://www.ensembl.org/info/docs/tools/vep/index.html
Oncología	Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC)	http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic
	The Cancer Genome Atlas (TCGA)	http://cancergenome.nih.gov/
	OncoKB	http://oncokb.org/#/
	My Cancer Genome	https://www.mycancergenome.org/
	Clinical Interpretations of Variants in Cancer (CIVIC)	https://civicdb.org/home
	Personalized cancer therapy, MD Anderson Cancer Center	https://pct.mdanderson.org
	Pediatric Cancer Genome Project (St. Jude Children's Research Hospital)	http://explorepcgp.org

general requiere mayor profundidad que la germinal debido a la frecuencia alélica esperada de las variantes: a mayor profundidad, mayor confianza en la detección de variantes en baja frecuencia⁽⁶⁸⁾.

Dado que el rendimiento de las celdas de flujo o los chips semiconductores es fijo, se podría decir que a mayor cobertura de un ensayo, obtenemos menor profundidad, y viceversa.

Para cierto tipo de patologías, el valor de la detección de grandes deleciones, duplicaciones o ampliaciones, es muy importante. Este tipo de alteraciones, englobadas bajo el nombre de variación del número de copias (*Copy Number Variation* o *CNV* en inglés) puede también evaluarse por medio de diversos métodos bioinformáticos siempre y cuando el diseño del ensayo lo permita^(38,39).

A nivel del ARN el procesamiento bioinformático de las lecturas puede detectar presencia de fusiones génicas, y también puede cuantificar las lecturas correspondientes a un transcripto, expresarla de forma absoluta o relativa, etc. (expresión génica)⁽⁶⁸⁾.

Calidad y cuestiones éticas en el diagnóstico clínico:

Como en cualquier otra práctica diagnóstica, se debe asegurar la calidad de los procesos preanalíticos, analíticos y postanalíticos de la secuenciación NGS. Por un lado, los laboratorios deben estar acreditados por organismos (nacionales o internacionales) que garanticen las buenas prácticas de trabajo y el correcto monitoreo de los procesos^(33,69). Por otro lado, a la hora de poner en marcha un ensayo de NGS para el diagnóstico clínico, debemos conocer que existen requerimientos y recomendaciones para ofrecer ensayos de NGS tanto para patologías germinales como somáticas^(35,70-72). Podemos dividir el proceso en familiarización, puesta a punto, validación e implementación. Un punto particularmente importante es la validación de los ensayos. Se trata de analizar la funcionalidad de un test utilizando muestras conocidas (controles de calidad externos, controles comerciales) o testeadas por una técnica ortóloga considerada patrón oro, y obtener una serie de parámetros mensurables y auditables: sensibilidad, especificidad, exactitud, repetibilidad intra- e interensayo, rango reportable, límite de detección, etc^(33,70,71). Esto brinda una visión del desempeño del ensayo, a la vez que alerta sobre posibles eventualidades a tener en cuenta, como sesgos, errores sistemáticos, interferencias, criterios

de rechazo de muestras, etc. Se recomienda realizar controles de calidad externos (*External Quality Assessment* o *EQA* en inglés) periódicamente para los tests ofrecidos. Algunos de los EQA más comunes en nuestro medio provienen de organizaciones internacionales como CAP, EMQN, UKNEQAS, EuroGen-test, etc⁽⁷³⁻⁷⁶⁾.

Las cuestiones éticas ligadas a la secuenciación masiva son muchas, y aún hoy varias de ellas siguen en discusión. Podríamos mencionar diversos tópicos como: la indicación médica de test genético, requerimiento de un test genético por parte del paciente (directo al consumidor o *DTC*), calidad de los tests diagnósticos, consentimiento informado, testeo genético en menores de edad, reanálisis y seguimiento de variantes de significado incierto, reporte de hallazgos incidentales, etc^(40,77).

Próxima generación de secuenciadores

Si bien NGS es una herramienta novedosa y prometedora, se han desarrollado nuevos secuenciadores con un concepto diferente. Se los denomina de tercera generación: son capaces de secuenciar sin amplificación (secuenciación de molécula única), es decir que carecen de pasos de amplificación. Al día de hoy están mayormente en etapas experimentales. Las ventajas de este tipo de secuenciadores radican en la posibilidad de secuenciar en tiempo real (sin necesidad de pausas entre los flujos de nucleótidos), y en leer hebras de ADN de miles de bases de longitud. Por otro lado, la precisión de estos métodos es algo menor que NGS^(15,78).

Conclusión

La secuenciación masiva paralela, conocida como secuenciación de segunda generación o NGS incluye a un conjunto de técnicas con un concepto similar. La capacidad y rapidez de los secuenciadores y el desarrollo continuo de estrategias de testeo más eficaces son parte de la revolución que atravesó la genómica en los últimos años.

Como herramienta, NGS brinda la capacidad de secuenciar a gran escala, con gran versatilidad. Se pueden abordar desde genomas completos hasta paneles reducidos de genes, estudio de fusiones y perfiles de expresión génica por ARN, etc. Las soluciones bioinformáticas permiten analizar los datos genómicos de forma eficaz.

Algo que cabe destacar es que NGS, como cualquier

otra técnica, tiene sus ventajas y limitaciones, y no necesariamente sustituye a técnicas tradicionalmente establecidas como patrón oro (*gold standard*) en el estudio de ciertas patologías. Por el contrario, la información genómica que se aporta desde la secuenciación masiva paralela es complementaria a la de otras técnicas, sobre todo en patologías complejas. A lo largo de los años hemos visto cómo el crecimiento y desarrollo de las técnicas de NGS estuvieron asociadas con generación exponencial de conocimiento en el campo de la genómica, lo que en ciertos casos fue llevado al ámbito asistencial por su valor en la clínica. En los últimos años, con el auge de la medicina de precisión, donde el estudio de un número cada vez mayor de biomarcadores ge-

nómicos es un estándar de cuidado, la utilización de este tipo de diagnóstico es de gran utilidad. El costo decreciente para la implementación de estas tecnologías hace pensar que en algunos años este tipo de tests se realizará de forma rutinaria.

La utilización de herramientas como NGS involucra directa o indirectamente a pacientes, médicos, investigadores, gobiernos, instituciones y seguros de salud, industria farmacéutica y biotecnológica, etc. Es importante garantizar la calidad de los procesos preanalíticos, analíticos y postanalíticos ligados a NGS, sobre todo en ámbitos asistenciales, por lo tanto se requiere estandarización y regulación en su utilización, fomentando el trabajo de grupos interdisciplinarios y la formación continua de recursos humanos.

Conflictos de interés: El autor declara no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

1. Watson JD y Crick FHC. Genetical Implications of the Structure of Deoxyribonucleic Acid. *Nature*. 1953;171:964-967.
2. Watson JD y Crick FHC. Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature*. 1953;171:737-738.
3. Wilkins MHF, Stokes AR y Wilson HR. Molecular structure of deoxypentose nucleic acids. *Nature*. 1953;171:738-740.
4. Franklin RE y Gosling RG. Molecular configuration in sodium thymonucleate. *Nature*. 1953;171:740-741.
5. Crick F. Central Dogma of Molecular Biology. *Nature*. 1970;227:561-563.
6. Jackson DA, Symons RH y Berg P. Biochemical method for inserting new genetic information into DNA of Simian Virus 40: circular SV40 DNA molecules containing lambda phage genes and the galactose operon of *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1972;69:2904-2909.
7. Cohen SN, Chang AC, Boyer HW y Helling RB. Construction of biologically functional bacterial plasmids in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1973;70:3240-3244.
8. Nathans D Smith HO. Restriction endonucleases in the analysis and restructuring of DNA molecules. *Annu Rev Biochem*. 1975;44:273-293.
9. Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G y Erlich H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 1986;51:263-273.
10. Gilbert W y Maxam A. The nucleotide sequence of the lac operator. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1973;70:3581-3584.
11. Sanger F. The Croonian Lecture, 1975. Nucleotide sequences in DNA. *Proc R Soc Lond. B Biol Sci*. 1975;191:317-333.
12. Zhang J, Chiodini R, Badr A y Zhang G. The impact of next-generation sequencing on genomics. *J. Genet. Genomics* 2011;38:95-109.
13. Kchouk M, Gibrat JF y Elloumi M. Generations of Sequencing Technologies: From First to Next Generation. *Biology and Medicine* 2017;09:3.
14. Nyrén P y Lundin A. Enzymatic method for continuous monitoring of inorganic pyrophosphate synthesis. *Anal Biochem*. 1985;151:504-509.
15. van Dijk EL, Jaszczyszyn Y, Naquin D y Thermes C. The Third Revolution in Sequencing Technology. *Trends Genet*. 2018;34:666-681.
16. Human Genome Project FAQ. Disponible en: <https://www.genome.gov/human-genome-project/Completion-FAQ>. (Consultado: 12 julio 2019).
17. Collins FS, Patrinos A, Jordan E. New goals for the U.S. Human Genome Project: 1998-2003. *Science* 1998;282:682-689.
18. Collins F y Galas D. A new five-year plan for the U.S.

- Human Genome Project. *Science* 1993;262:43-46.
19. Lander ES, Linton LM, Birren B. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001;409:860-921.
 20. Venter JC, Adams MD, Myers EW. The sequence of the human genome. *Science* 2001;291:1304-1351.
 21. 2003: Human Genome Project Completed. Disponible en: <https://www.genome.gov/25520492/online-education-kit-2003-human-genome-project-completed>. (Consultado: 12 julio 2019).
 22. Weinstein JN. The Cancer Genome Atlas Research Network, Collison EA y col. The Cancer Genome Atlas Pan-Cancer analysis project. *Nature Genetics*. 2013;45:1113-1120.
 23. The ENCODE Project Consortium. The ENCODE (ENCyclopedia Of DNA Elements) Project. *Science*. 2004;306:636-640.
 24. Delaneau O. The 1000 Genomes Project Consortium y Marchini J. Integrating sequence and array data to create an improved 1000 Genomes Project haplotype reference panel. *Nature Communications*. 2014;5:3934.
 25. The International HapMap Consortium. The International HapMap Project. *Nature*. 2003;426:789-796.
 26. Stein LD. The case for cloud computing in genome informatics. *Genome Biol*. 2010;11:207.
 27. Heather JM y Chain B. The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. *Genomics*. 2016;107:1-8.
 28. Wheeler DA, Srinivasan M, Egholm M y col. The complete genome of an individual by massively parallel DNA sequencing. *Nature*. 2008;452:872-876.
 29. Rothberg JM, Hinz W, Rearick TM y col. An integrated semiconductor device enabling non-optical genome sequencing. *Nature*. 2011;475:348-352.
 30. Shendure J, Porreca GJ, Reppas NB y col. Accurate multiplex polony sequencing of an evolved bacterial genome. *Science*. 2005;309:1728-1732.
 31. History of Illumina Sequencing and Solexa Technology. Disponible en: <https://www.illumina.com/science/technology/next-generation-sequencing/illumina-sequencing-history.html>. (Consultado: 12 julio 2019).
 32. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP y col. Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature*. 2008;456:53-59.
 33. Schrijver I, Aziz N, Fakras DH. Opportunities and challenges associated with clinical diagnostic genome sequencing: a report of the Association for Molecular Pathology. *J Mol Diagn*. 2012;14:525-540.
 34. Majewski J, Schwartzentruber J, Lalonde E, Montpetit A y Jabado N. What can exome sequencing do for you? *J Med Genet*. 2011;48:580-589.
 35. Rehm HL, Bale SJ, Bayrak-Toydemir P y col. ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing. *Genet Med*. 2013;15:733-747.
 36. Lee H, Deignan JL, Dorrani N y col. Clinical exome sequencing for genetic identification of rare Mendelian disorders. *JAMA*. 2014;312:1880-1887.
 37. Bodian DL, Kothiyal P y Hauser NS. Pitfalls of clinical exome and gene panel testing: alternative transcripts. *Genet Med*. 2019;21:1240-1245.
 38. Koboldt DC, Steinberg KM, Larson DE, Wilson RK y Mardis ER. The next-generation sequencing revolution and its impact on genomics. *Cell* 2013;155:27-38.
 39. Yohe S y Thyagarajan B. Review of Clinical Next-Generation Sequencing. *Arch Pathol Lab Med*. 2017;141:1544-1557.
 40. Bosch JRT, ten Bosch JR y Grody WW. Current Massively Parallel Sequencing Technologies: Platforms and Reporting Considerations. *Genomic Applications in Pathology*. Netto G, Kaul K. 2019, p 11-21. Springer, Cham.
 41. Gundry M y Vijg J. Direct mutation analysis by high-throughput sequencing: from germline to low-abundant, somatic variants. *Mutat Res*. 2012;729:1-15.
 42. Ding L, Wendl MC, Koboldt DC y Mardis ER. Analysis of next-generation genomic data in cancer: accomplishments and challenges. *Human Molecular Genetics* 2010;19:R188-R196.
 43. Sastre L. Exome sequencing: what clinicians need to know. *Advances in Genomics and Genetics*. 2014;4:15-27.
 44. Park PJ. ChIP-seq: advantages and challenges of a maturing technology. *Nat Rev Genet*. 2009;10:669-680.
 45. Soto J, Rodriguez-Antolin C, Vallespin E, de Castro Carpeño J y Ibanez de Caceres I. The impact of next-generation sequencing on the DNA methylation-based translational cancer research. *Transl Res*. 2016;169:1-18e1.
 46. Heyer EE, Deveson IW, Wooi D y col. Diagnosis of fusion genes using targeted RNA sequencing. *Nature Communications*. 2019;10:1388.

47. Wang Q, Xia J, Jia P, Pao W y Zhao Z. Application of next generation sequencing to human gene fusion detection: computational tools, features and perspectives. *Briefings in Bioinformatics*. 2013;14:506-519.
48. Kumar S, Razzaq SK, Vo AD, Gautam M y Li H. Identifying fusion transcripts using next generation sequencing. *Wiley Interdiscip Rev RNA*. 2016;7:811-823.
49. Chiu CY y Miller SA. Clinical metagenomics. *Nature Reviews Genetics*. 2019;20:341-355.
50. Mamanova L, Coffey AJ, Scott CE y col. Target-enrichment strategies for next-generation sequencing. *Nat. Methods*. 2010;7:111-118.
51. Okou DT, Steinberg KM, Middle C, Cutler DJ, Albert TJ y Zwick ME. Microarray-based genomic selection for high-throughput resequencing. *Nat Methods*. 2007;4:907-909.
52. Gnirke A, Melnikov A, Maguire J y col. Solution hybrid selection with ultra-long oligonucleotides for massively parallel targeted sequencing. *Nat Biotechnol*. 2009;27:182-189.
53. Potapov V y Ong JL. Examining Sources of Error in PCR by Single-Molecule Sequencing. *PLoS One*. 2017;12:e0169774.
54. Ikegawa S, Mabuchi A, Ogawa M y Ikeda T. Allele-specific PCR amplification due to sequence identity between a PCR primer and an amplicon: is direct sequencing so reliable? *Hum Genet*. 2002;110:606-608.
55. Peng Q, Vijaya Satya R, Lewis M, Randad P y Wang Y. Reducing amplification artifacts in high multiplex amplicon sequencing by using molecular barcodes. *BMC Genomics*. 2015;16:589.
56. Hamady M, Walker M, Harris M, Gold NJ y Knight R. Error-correcting barcoded primers for pyrosequencing hundreds of samples in multiplex. *Nat Methods*. 2008;5:235-237.
57. Hiatt JB, Pritchard CC, Salipante SJ, O'Roak BJ & Shendure J. Single molecule molecular inversion probes for targeted, high-accuracy detection of low-frequency variation. *Genome Res*. 2013;23:843-854.
58. Tewhey R, Warner JB, Nakano M y col. Microdroplet-based PCR enrichment for large-scale targeted sequencing. *Nat Biotechnol*. 2009;27:1025-1031.
59. Ballester L Y, Luthra R, Kanagal-Shamanna R y Singh RR. Advances in clinical next-generation sequencing: target enrichment and sequencing technologies. *Expert Rev Mol Diagn*. 2016;16:357-372.
60. Ewing B, Hillier L, Wendl MC y Green P. Base-calling of automated sequencer traces using phred. I. Accuracy assessment. *Genome Res*. 1998;8:175-185.
61. Ewing B y Green P. Base-calling of automated sequencer traces using phred. II. Error probabilities. *Genome Res*. 1998;8:186-194.
62. Thorvaldsdottir H, Robinson JT y Mesirov JP. Integrative Genomics Viewer (IGV): high-performance genomics data visualization and exploration. *Briefings in Bioinformatics*. 2013;14:178-192.
63. Richards S, Aziz N, Bale S y col. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17:405-424.
64. Li MM, Dato M, Duncavage EJ. Clinical Implementation of the Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer: A Joint Consensus Recommendation of AMP, ASO and CAP. *Cancer Genetics*. 2017;26:214-215.
65. ACMG Board of Directors. ACMG policy statement: updated recommendations regarding analysis and reporting of secondary findings in clinical genome-scale sequencing. *Genet Med*. 2015;17:68-69.
66. Hehir-Kwa JY, Claustres M, Hastings RJ. Towards a European consensus for reporting incidental findings during clinical NGS testing. *Eur J Hum Genet*. 2015;23:1601-1606.
67. Consenso sobre Informes de Estudios Moleculares en Cáncer Hereditario. Instituto Nacional de Cáncer, Ministerio de Salud, República Argentina. Disponible en: <http://www.msal.gov.ar/images/stories/bes/graficos/0000001143cnt-20180409-consenso-informes-estudios-moleculares-cancer-hereditario.pdf>. (Consultado: 12 julio 2019).
68. Netto GJ y Kaul KL. *Genomic Applications in Pathology*. 2018. Springer, Cham.
69. Deignan JL. Clinical Implementation of Next-Generation Sequencing (NGS) Assays. *Genomic Applications in Pathology*. Netto G, Kaul K. 2019, p 113-118. Springer, Cham.
70. Jennings LJ, Arcilla ME, Corless C y col. Guidelines for Validation of Next-Generation Sequencing-Based Oncology Panels: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology and College of American Pathologists. *J Mol Diagn*. 2017;19:341-365.

71. Santani A, Murrell J, Funke B y col. Development and Validation of Targeted Next-Generation Sequencing Panels for Detection of Germline Variants in Inherited Diseases. Arch Pathol Lab Med. 2017;141:787-797.
72. Aziz N, Zhao Q, Bry L y col. College of American Pathologists' Laboratory Standards for Next-Generation Sequencing Clinical Tests. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2015;139:481-493.
73. College of American Pathologists. Disponible en: <https://www.cap.org/>. (Consultado: 12 julio 2019).
74. EuroGentest: EQA Scheme Molecular. Disponible en: <http://www.eurogentest.org/index.php?id=706>. (Consultado: 12 julio 2019).
75. UKNEQAS for Molecular Genetics. Disponible en: <https://www.ukneqas-molgen.org.uk/>. (Consultado: 12 julio 2019).
76. Home - EMQN. Disponible en: <https://www.emqn.org/>. (Consultado: 12 julio 2019).
77. Greely HT. Ethical Issues in Clinical Genetics and Genomics. Genomic Applications in Pathology. Netto G, Kaul K. 2019, p 135-146. Springer, Cham.
78. Anderson MW. Emerging Next-Generation Sequencing Technologies. Genomic Applications in Pathology. Netto G, Kaul K. 2019, p 23-31. Springer, Cham.



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.

Linfomas no Hodgkin en niños, adolescentes y adultos jóvenes: nuevos desafíos

Childhood, adolescent and young adult non-Hodgkin lymphoma: new challenges

Soria ME

Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez. Unidad de Hematología

marcela.e.soria@gmail.com



**LINFOMAS
NO HODGKIN
EN PEDIATRÍA**

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Número Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 39-53
Octubre 2019

Palabras claves: linfoma no Hodgkin, niños, adolescentes y adultos jóvenes, nuevas terapias.

Keywords: non-Hodgkin lymphoma, children, adolescents and young adults, new therapies.

Introducción

Los linfomas no Hodgkin (LNH) son un grupo heterogéneo de malignidades. Niños, adolescentes y adultos jóvenes presentan, en su mayoría, linfomas agresivos que son tratados con esquemas de multi-quimioterapia o inmuno-quimioterapia, lográndose tasas altas de sobrevida con el tratamiento. Sin embargo, la enfermedad refractaria o recaída presenta resultados diferentes.

Los LNH en niños, adolescentes y adultos jóvenes (AYA: *adolescents and young adults*) se caracterizan por diferencias relacionadas con la edad, biología del tumor y sobrevida. Los niños generalmente presentan linfomas de alto grado, como el linfoma de Burkitt, el linfoma difuso de células B grandes,

el linfoma linfoblástico y el linfoma anaplásico de células grandes. Los subtipos histológicos de bajo grado, como el linfoma folicular, ocurren con menor frecuencia y su incidencia aumenta con la edad. El resultado del tratamiento en niños con LNH es generalmente superior al observado en adultos, contribuyendo a esto diferencias en la biología del tumor, la terapia y factores psicosociales del paciente. En la mayoría de los centros tratantes, los pacientes son divididos en pacientes pediátricos-adolescentes (menores de 18 años) y adultos. La población AYA presenta diferencias en la clínica, biología y tipos de LNH cuando se los compara con niños y adultos. El resultado de los tratamientos en este grupo etario (AYA) ha sido históricamente inferior al de niños o

adultos mayores, destacando la importancia del estudio del mismo. La implementación de la terapia adaptada al riesgo en niños, adolescentes y adultos jóvenes (CAYA: *childhood, adolescent and young adult*) con LNH ha logrado tasas de sobrevida global entre 80-90% en los últimos años⁽¹⁾.

Los pacientes sobrevivientes de LNH presentan aumento del riesgo de mortalidad alejada producida por neoplasias secundarias, enfermedades crónicas recurrentes o progresivas y aumento de la morbilidad relacionada con múltiples órganos y sistemas que afectan la calidad de vida. Estos riesgos son similares a niños y adolescentes sobrevivientes con LLA, tumor de Wilms y linfoma de Hodgkin⁽²⁾.

Nuevos agentes terapéuticos son importantes para mejorar los resultados del tratamiento y minimizar la toxicidad asociada en LNH B y T. La nueva terapia en desarrollo incluye inmunoterapia humoral y celular, pequeñas moléculas inhibidoras de vías relevantes de señalización y nuevos agentes epigenéticos.

Los nuevos desafíos en LNH abarcan la caracterización del grupo etario AYA y el acercamiento de la medicina traslacional a esta patología.

Epidemiología

Los LNH representan el 8% de las neoplasias en AYAs, siendo el linfoma de difuso de células gran-

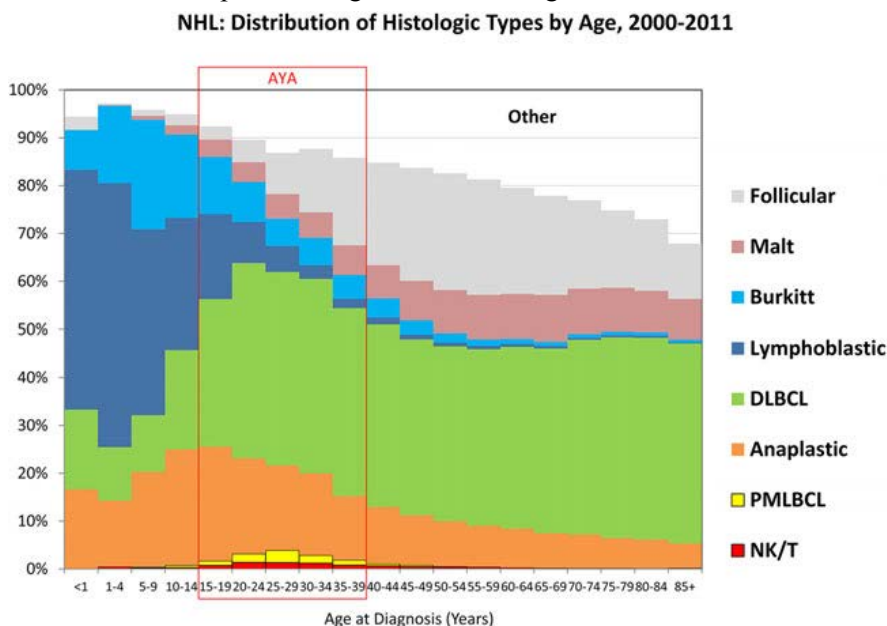
des B (LDCGB) el más frecuente, seguido por el linfoma anaplásico de células grandes (LACG). Algunas entidades raras en otros grupos etarios, como el linfoma B primario mediastinal (LBPM) y el linfoma de células T / natural killer (NK) tienen su mayor incidencia en AYAs (Figura 1).

El subtipo histológico de LNH en AYAs varía su distribución según raza y etnia. Las tasas de sobrevida varían según el tipo histológico y la edad (Figura 2). Los LDCGB representan el 35-40% de los LNH en adultos y son mucho menos frecuente en pediatría. El linfoma Burkitt (LB) es común en pediatría, pero en adultos representa menos del 5%. La división entre adultos y niños no resulta tan sencilla cuando hablamos de linfomas, ya que la población de AYA (definida por el Instituto Nacional de Cancer (NCI) de EEUU entre 15-39 años) abarca una distribución particular de linfomas, existiendo una superposición entre características de pacientes pediátricos y adultos⁽³⁾.

1- Linfomas maduros de células B

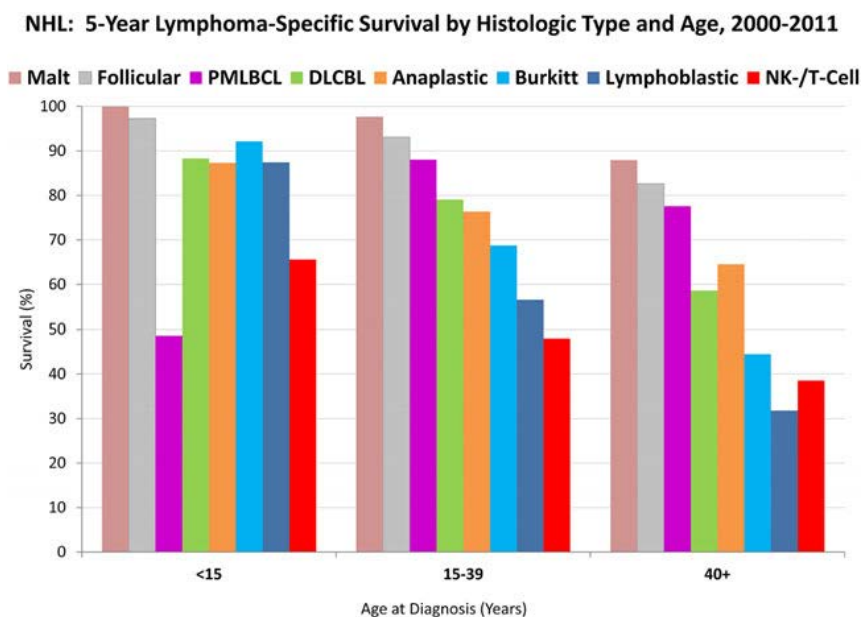
El pronóstico de la enfermedad mejoró mucho en los últimos 30 años en pacientes CAYA con LNH B maduro⁽⁴⁾ con tasas de SLE de aproximadamente 90% (Figura 3)^(1,5).

Figura 1. Distribución de tipos histológicos de LNH según edad, United States SEER 2000-2011



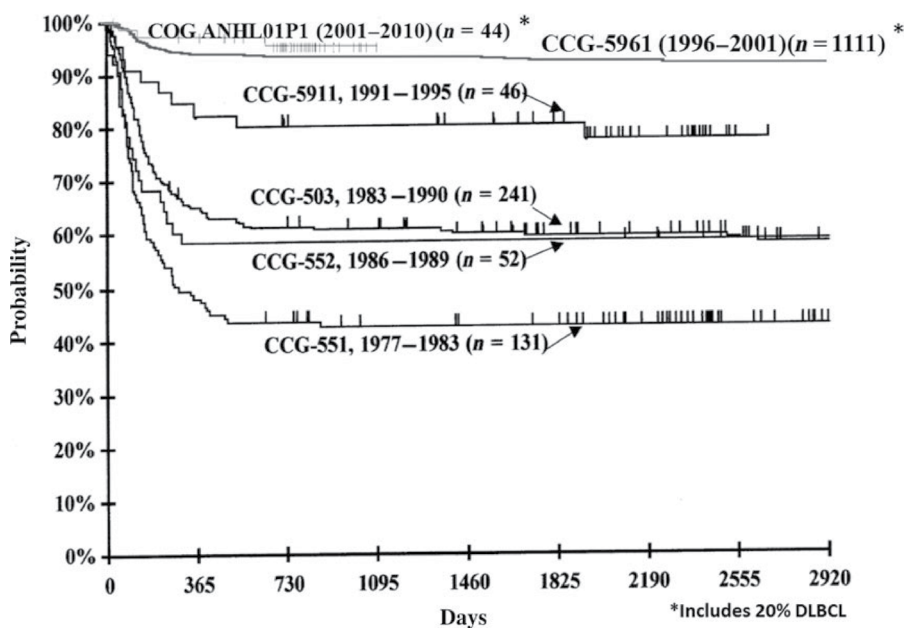
Fuente: SEER 18 Areas, NCI.

Figura 2. LNH. Sobrevida a 5 años según tipo histológico y edad 2000-2011; United States SEER data



Fuente: National Cancer Institute: SEER18 Areas.

Figura 3. SLE en pacientes con LNH B. COG (551,503, 552, 5911, CCG-5961, ANHL01P1).



CCG, Children's Cancer Group; COG, Children's Oncology Group. DLBCL: linfoma difuso de células grandes B

EL LNH B maduro representa la mayor parte de los linfomas en AYA. Entre ellos se encuentran: el LDCGB (que presenta características clínicas, morfológicas y genéticas distintivas), el LB, el linfoma primario mediastinal (PMBL) y otras formas menos comunes de linfomas de zona marginal, variantes raras de LDCGB y el linfoma asociado a inmunodeficiencias.

Mientras que los LB son el subtipo de LNH B maduro más frecuente en menores de 15 años (38%), el LDCGB predomina en AYA (55-75%) e incrementa su incidencia con la edad^(1,6,7). Tanto el LB como el LDCGB representan linfomas agresivos con tumores en zona del anillo de Waldeyer y el abdomen. La mayoría de los pacientes con LDCGB presentan enfermedad localizada (St Jude estadio I/II)⁽⁸⁾. En contraste, los pacientes con LB presentan estadios más avanzados (St. Jude III/IV) y mayor compromiso de SNC y médula ósea (MO)⁽⁹⁾.

Linfoma difuso de células grandes B y linfoma de Burkitt

El **LDCGB** representa el 10-20% del LNH pediátrico. Estos pacientes tienen un pronóstico significativamente mejor que los adultos con LDCG. La diferencia en el pronóstico puede estar relacionada con las características clínicas, fenotípicas y / o biológicas del DLBCL pediátrico y del adulto.

El LDCGB se caracteriza por presentar un infiltrado linfocitario B, con células grandes que expresan inmunoglobulina de superficie (Igs), CD19, CD20, CD22 y CD79a. Se pueden diferenciar según el inmunofenotipo y perfil genómico en linfoma de centro germinal (CG) y linfoma de célula B activada (ABC: *activated B-cell*). La distribución de los mismos varía con la edad (0-9 años: 95% GCB, 10-19 años: 80% GCB, adultos 42% GCB p.0001)⁽¹⁰⁾.

En adultos, el LDCGB CG se asocia a un pronóstico favorable en comparación con LDCGB ABC, que presenta SG de 34%^(11,12). El riesgo adverso asociado con el subtipo ABC es probablemente secundario a BCL-2 y ciclina D2.

En contraste con los adultos, el LDCG más frecuente en niños y AYA (entre 18 y 21 años) es el CG. Presenta alto índice de proliferación, alta incidencia de translocación y expresión de C-MYC, y ausencia de BCL2^(10,13,14). La expresión de BCL2 generalmente aumenta con la edad y se asocia con resultados inferiores en DLBCL⁽¹⁵⁾.

Aunque no presentan características citogenéticas particulares, el 5-10% de los LDCGB pueden expresar MYC (al igual que los LB)⁽¹⁶⁾. Fenotípicamente el LDCGB CG se caracteriza por la presencia de CD10 y BCL6, mientras que el ABC se asocia a un marcador post centro germinal, MUM1⁽¹⁶⁾.

El **LB** presenta translocación del oncogén MYC, localizado en el cromosoma 8, con el gen de inmunoglobulinas localizado en el cromosoma 2, 14 o 22. Al igual que el LDCGB en niños y AYA, el LB es caracterizado por alto índice de proliferación y ausencia de BCL2. Los LDCGB CG y LB presentan CD10 y BCL6 con pérdida de Tdt⁽⁸⁾. Utilizando el perfil de expresión génica, más del 31% de los LDCGB en CAYAs podrían ser clasificados molecularmente como LB⁽¹⁷⁾. Tanto AYAs y adultos que molecularmente son definidos como LB deben ser tratados con quimioterapia intensiva, ya que se demostró mejor SG en este grupo de pacientes⁽¹⁸⁾.

El **LB like** expresa un fenotipo mixto, con frecuencia presenta CD20, CD10 y Bcl-6 positivo, BCL2 positivo y reordenamiento de C-MYC⁽¹⁸⁾. La presencia de reordenamientos concurrentes en *CMYC* y *BCL2* o *BCL6* ha sido asociado con un curso clínico agresivo y resultados adversos en adultos^(19,20,21).

Se denomina **linfoma doble expresor** (DE) a aquellos que en la inmunohistoquímica sobreexpresan MYC y BCL2 o BCL6, pudiendo o no tener reordenamiento en el FISH. Se denomina **triple expresor** (TE) cuando sobreexpresan MYC, BCL2 y BCL6.

Los **linfomas doble hit** (DH) son aquellos en los que el reordenamiento del *cMYC* se asocia al del gen *BCL2* o del *BCL6*. Cuando coexisten los tres reordenamientos se habla de linfomas **triple hit** (TH). En la clasificación WHO del 2008 no son reconocidos como una entidad particular, pero en la actualización 2016-2017 los linfomas DH son incluidos en una categoría particular denominada "linfomas B de alto grado con *BCL2/BCL6* y *cMYC*".

La condición de linfoma DE no se considera un subrogante de DH/TH. El 80%-90% de los linfomas "doble hit" son "doble expresores", mientras que < 20% de los "doble expresores" son "doble hit".

Las translocaciones recurrentes que involucran *BCL6*, *BCL2* y *MYC* son de particular interés debido a que los linfomas DH, en adultos, se asocian con mal pronóstico y se limitan en gran medida a pacientes con LDCGB CG. Los linfomas DH son más raros en la población pediátrica⁽²²⁾. Estas asociacio-

nes en CAYAs son un grupo particular de estudio. En las últimas dos décadas se incrementaron las investigaciones traslacionales en LNH en CAYA. Una de las nuevas innovaciones es la búsqueda de enfermedad mínima diseminada (EMD) y de enfermedad mínima residual (EMR) medidas al diagnóstico y durante el tratamiento respectivamente. Éstas se realizan por citometría de flujo multiparamétrica (CFM), mediante la búsqueda de fenotipos aberrantes o por reacción en cadenas con polimerasa de transcritos de fusión⁽¹⁹⁾. La EMR y EMD demostraron asociarse con riesgo y pronóstico en niños y adolescentes con LNH^(19,20,21,23,24). Fueron incorporadas en protocolos pediátricos internacionales de estadificación y clasificación (IPNHLSC)^(25,26).

Recientemente se publicaron nuevas metodologías para detectar DNA de tumor circulante (ctDNA) por secuenciación de alto rendimiento (*high throughput sequencing HTS*)⁽²⁷⁾, perfiles personalizados mediante secuenciación (CAPP-Seq) y detección de fragmentos circulantes de DNA (cfDNA). En adultos con LDCGB se demostró que pacientes con niveles altos de EMD al diagnóstico, medida por cfDNA, presentan disminución significativa de la SLE y SG⁽²⁸⁾.

El tratamiento de niños y adolescentes con LB y LACGB ha mejorado significativamente en los últimos 40 años, con incremento de la SLE a 2 años de 45 a 90%. Los mismos son cortos pero con quimioterapia intensiva^(1,31,32,33,34,35).

La introducción de rituximab en pacientes de riesgo intermedio y alto incrementó significativamente la SLE en CAYAs, siendo la misma muy bien tolerada en conjunto con la quimioterapia adaptada al riesgo^(1,5,36,37,38). Adolescentes mayores de 15 años presentan SG similar a niños menores⁽³⁴⁾. El uso de rituximab permitiría reducir a corto y largo plazo la terapia citotóxica, mejorando la calidad de sobrevivida en la mayoría de los niños con linfoma de células B maduras. Se ha demostrado que la adición de rituximab a esquemas de quimioterapia FAB/LMB es segura y efectiva en pacientes AYAs con LNH de células B maduras^(36,38). Se requerirán estudios futuros para determinar si la incorporación de rituximab a los esquemas de quimioterapia moderna, permite reducir aún más la carga de quimioterapia, en un intento por mantener a 2 años SLE y SG $\geq 90\%$ y 95% , respectivamente, reduciendo así toxicidades agudas graves y/o morbilidad a largo plazo⁽³⁹⁾.

Adicionalmente se encuentra en estudio el rol de un anti CD20 tipo 2, como obinutuzumab, que tiene mayor actividad apoptótica, con respecto al tipo I, además de otros anticuerpos monoclonales conjugados dirigidos contra CD19, CD22, CD79c, entre otros⁽³⁹⁾.

En contraste con las tasas excelentes de sobrevivida, pacientes recaídos o con progresión de la enfermedad durante el tratamiento de primera línea presentan SG de 25% ⁽³⁵⁾.

Actualmente se estudia agregar ibrutinib a la quimioterapia estándar (R-ICE [rituximab, ifosfamida, carboplatino, etopósido] o R-VICI [rituximab, vincristina, ifosfamida, carboplatino, idarrubicina]) para pacientes con LNH B refractarios / recidivantes de 1 a 30 años, en un estudio de fase I / II (NCT02703272). Ibrutinib es un inhibidor oral potente de la tirosina kinasa de Bruton, se asocia con inhibición de numerosos procesos que incluyen las vías de señalización intracelular dependientes del receptor de célula B, proliferación, migración y sobrevivida de células B, mejorando de esta manera la SG.

Recientemente se presentaron resultados de 13 pacientes con LNB B refractarios o recaídos que recibieron reinducción, trasplante de MO mieloablatoivo autólogo, utilizando ciclofosfamida, carmustina y etopósido y luego trasplante alogénico con intensidad reducida logrando SLE a 5 años de 91% ⁽⁴⁰⁾.

En pediatría, existen otros subtipos raros de LNH B maduros, que representan menos del 5% . Incluyen el linfoma folicular (LF), el linfoma de la zona marginal nodal (NZM) y extranodal (EZM). El tratamiento de LF y LZM después de la biopsia o cirugía con exéresis completa es mirar y observar con sobrevividas cercanas al 100% ⁽²⁹⁾.

Linfoma primario mediastinal B (PMBL)

El PMBL es una entidad diferente al LDCGB y LB, con una incidencia particular en AYAs. Es definido por la presencia de una masa mediastinal que deriva de células tímicas B maduras con características morfológicas, fenotípicas y moleculares que se superponen con el linfoma de Hodgkin clásico, en particular por la expresión de CD30^(41,42). La mutación *BCL6* y de cadenas pesadas de inmunoglobulinas ocurre frecuentemente. El linfoma de la zona gris (MGZL) muestra características inmunofenotípicas y moleculares tanto de HL como de PMBL, y está

asociado con un pronóstico inferior en pacientes adultos⁽⁴³⁾. En contraste con el LDCGB y el LB, la afectación abdominal al diagnóstico es rara en la PMBL. Se presenta con mayor frecuencia con una gran masa mediastinal que involucra estructuras adyacentes, con o sin derrame pleural o pericárdico. Si bien los síntomas B y la LDH elevada se presentan con frecuencia, el SNC y MO habitualmente no están comprometidos. El tratamiento de PMBL con la terapia estándar de FAB / LMB mostró una SLE de 5 años de 66% en menores de 21 años⁽⁴¹⁾. Sin embargo, DAEPOCH-R ha alcanzado tasas de SLE de 93% en todos los grupos de edad y elimina radioterapia. La identificación de marcadores biológicos y la aplicación de inmunoterapia mejorarían la sobrevida a largo plazo en el grupo AYA. Los nuevos agentes moleculares actualmente bajo investigación incluyen bortezumib, ibrutinib y lenalidomida⁽⁴⁴⁾. El obinutuzumab ha demostrado una eficacia superior en comparación con el rituximab en tumores malignos de células B^(45,46).

2- Linfoma anaplásico de células grandes LACG

Los LACG constituyen un subgrupo de linfomas que, se cree, derivan de células T periféricas citotóxicas. Incluye cuatro entidades distintas⁽⁴⁷⁾.

1. Linfoma anaplásico quinasa (ALK) positiva (ALK + ALCL)
2. Linfoma ALK negativa (ALK - ALCL)
3. Linfoma asociado a implantes mamarios
4. Linfoma ALCL cutáneo primario.

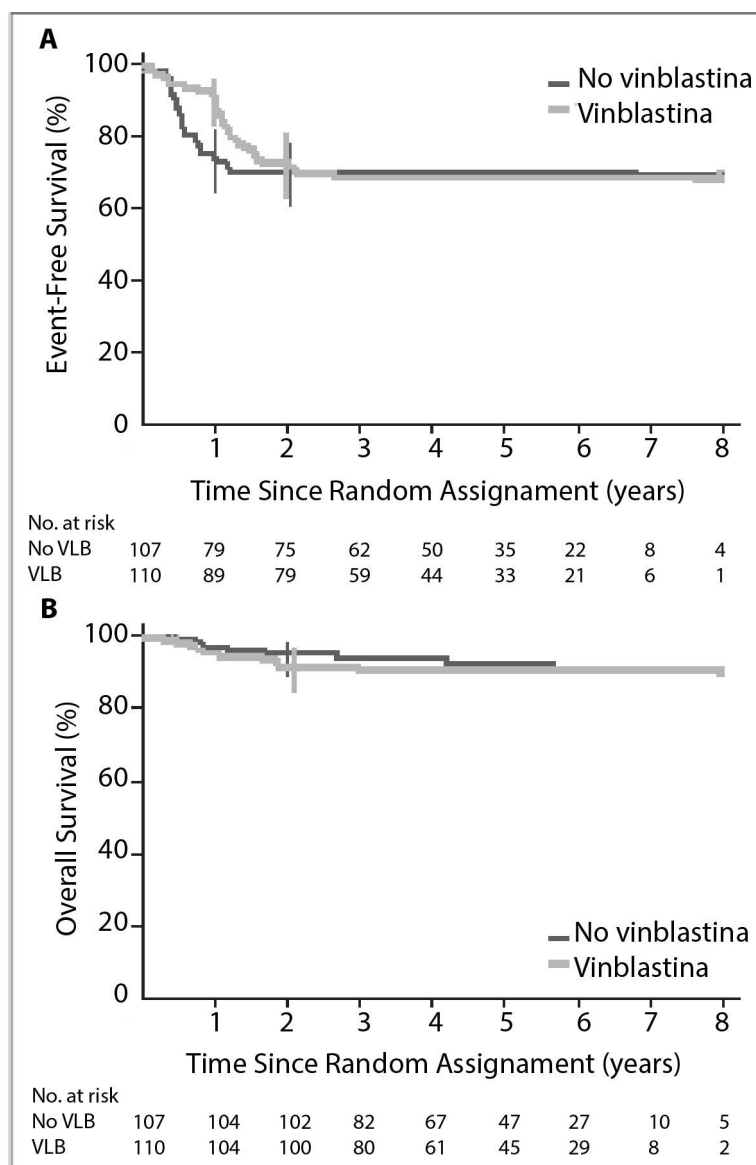
La mayoría de los linfomas LACG son *ALK*+, sistémicos y resultan de translocaciones cromosómicas que involucran el gen *ALK* y al gen de la nucleofosmina (*NPM*), asociado con t(2;5)(p23;q35). Esta translocación resulta en una fosforilación constitutiva de *ALK* asociada a la activación de múltiples vías como JAK / STAT3, AKT / PI3K y RAS / ERK, lo cual conduce a la proliferación celular e inhibición de la apoptosis.

Los LACG *ALK*- representan menos del 5% del LACG sistémico en niños y adolescentes, pero hasta el 40% del LACG sistémico en adultos menores de 40 años⁽⁴⁸⁾. Se asocian con la activación de la ruta JAK / STAT. La translocación más frecuente incluye la región DUSP22-IRF4, que se presenta en el 30% de los LACG *ALK* - en adultos⁽⁴⁹⁾.

Los LACG sistémicos se caracterizan en la mayoría de los casos por enfermedad avanzada, estadio III-IV con afectación de los ganglios linfáticos, frecuentemente asociada con síntomas B, masa mediastinal y diseminación extranodal que incluye piel, tejidos blandos, huesos, pulmón e hígado⁽⁵⁰⁾. Menos del 15% de los pacientes tienen médula ósea inicialmente comprometida por citología, pero las células tumorales pueden detectarse en sangre y / o la médula ósea mediante PCR contra el producto de fusión *ALK* en más del 50% de los pacientes en el momento del diagnóstico⁽⁵¹⁾ y en SNC en menos <5% de los casos⁽⁵²⁾.

Se demostraron varios factores asociados con mayor riesgo de fracaso del tratamiento en niños y adolescentes, como la presencia de componente histiocítico⁽⁵³⁾, títulos bajos de anticuerpo anti *ALK* al diagnóstico⁽⁵¹⁾ y PCR positiva para *NPM-ALK* en MO o sangre al diagnóstico (EMD) o después del primer ciclo de quimioterapia (EMR)⁽⁵⁴⁾. En CAYA con LACG *ALK* +, mejoró significativamente la SG a largo plazo (de 78 a 92%) con diversos regímenes de quimioterapia^(48,50,55,56,57). En niños y adolescentes, el tratamiento de primera línea utilizado por la mayoría de los centros es el protocolo ALCL 99, que es un esquema de quimioterapia intensiva derivado de protocolos diseñados para B-LNH. Combinan dexametasona, ciclofosfamida, ifosfamida, citarabina, etopósido, doxorubicina y vinblastina con metotrexato a altas dosis más profilaxis en SNC⁽⁵⁸⁾. En adultos, la mayoría son tratados con regímenes basados en CHOP (ciclofosfamida, vincristina, doxorubicina y prednisona)^(57,58). El protocolo ALCL 99 demostró que la adición de vinblastina semanal en el mantenimiento, durante un año, en niños con ALCL de alto riesgo, retrasa significativamente la recaída, pero no mejora la SLE a 2 años (Figura 4). Todavía no hay consenso para el tratamiento de la recaída. Estudios retrospectivos demuestran que 50 a 60% de los niños y adolescentes con LACG *ALK*+ recidivante pueden ser rescatados con segunda línea de tratamiento adaptado al riesgo, esto incluye quimioterapia de reinducción seguida de trasplante de médula ósea autólogo o alogénico. Pacientes adultos con LACG recidivante o refractario tenían sobrevida menor del 20% antes del uso de terapia diana. Estas diferencias en la sobrevida en distintos grupos etarios podrían deberse a la biología de la enfermedad o a los distintos tratamientos⁽⁵⁹⁾.

Figura 4. A-SLE por grupos de tratamiento, con vinblastina y sin vinblastina. B- SG por grupos de tratamiento, con vinblastina y sin vinblastina. VLB: vinblastina

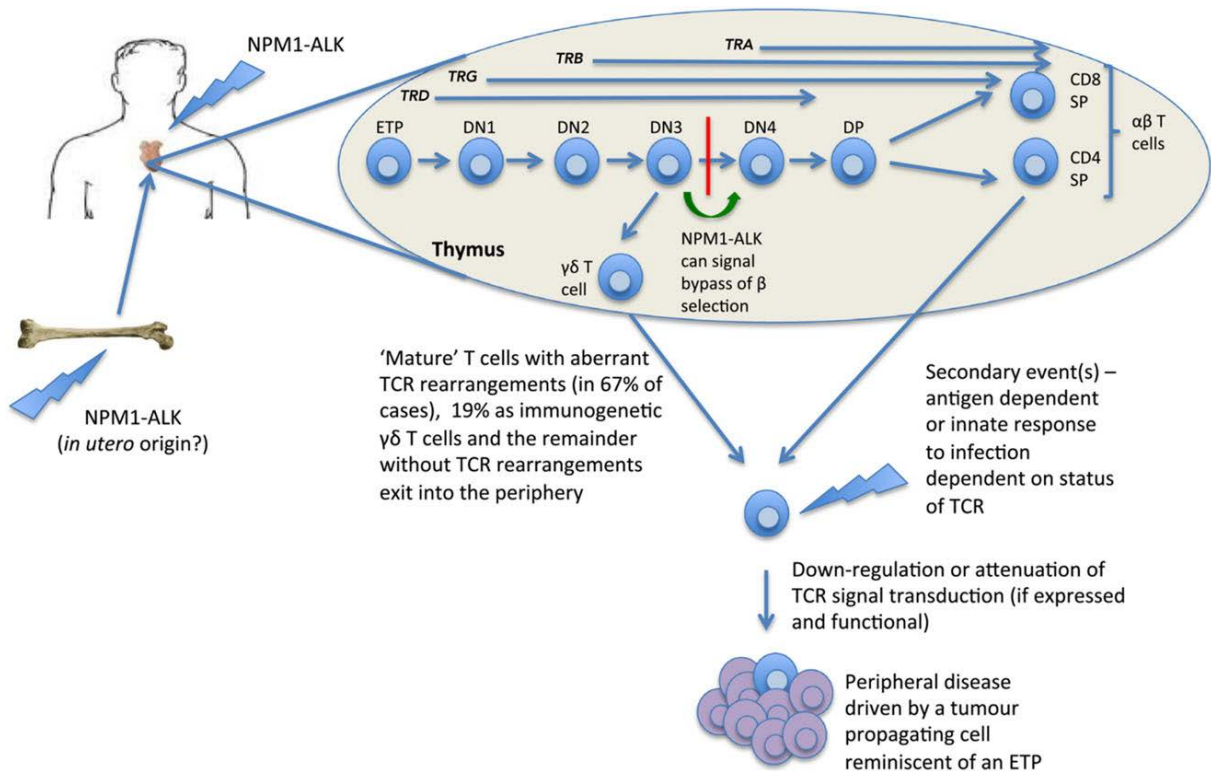


Lim (2018) mostró nuevas vías de oncogénesis en LACG y las vías ALK. Identificó IL-31Rb, un receptor de citoquinas, expresado exclusivamente en líneas celulares de LACG ALK +. Esta proteína podría ser diana terapéutica en LACG, ya que se demostró que su bloqueo en xenoinjertos impide el crecimiento del tumor. También mostró varios mecanismos inmunes regulados por ALK.

Turner y cols. (2016) demostraron que las células ALK-positivas se originan en el timo de los niños.

En modelos murinos NPM-ALK induce un arresto transitorio en células CD4, CD8 doble negativo (DN), punto crítico para el reordenamiento del receptor de células T (TCR), evitando así la diferenciación de timocitos a células T maduras^(59,60) (Figura 5). La regulación negativa de TCR durante la linfogénesis evita la diferenciación de linfocitos T, siendo esto fundamental para el desarrollo del tumor (Figura 5).

Figura 5. Origen tímico para LACG. En este modelo, la translocación t(2;5) o variante se produce en células madre hematopoyéticas o progenitores tímicos, por lo que NPM1-ALK permite la supervivencia celular en el timo a pesar de los reordenamientos aberrantes de TCR. Estas células pueden pasar desapercibidas hasta que ocurra un evento secundario que conduzca a la expansión clonal y al desarrollo del tumor. Este evento puede ser inducido como consecuencia de una respuesta inflamatoria como lo demuestra el LACG en el contexto de las picaduras de insectos, pero también podría iniciarse de manera innata. LACG: linfoma anaplásico de células grandes; DN: timocito doble negativo; DP: timocito doble positivo; ETP: progenitor tímico temprano; SP: sólo positivo; TCR, receptor de célula T. De Turner SD, Lamant L, Kenner L y Brugieres L.



Terapia anti ALK

Crizotinib es una molécula, que inhibe la fosforilación de ALK, disponible por vía oral, dando como resultado una actividad antitumoral. Las tasas de SLE y SG a 2 años fueron 63.7% y 72.7%, respectivamente, con una meseta en la curva después de los primeros 2 meses⁽⁶¹⁾.

Ceritinib es un potente inhibidor ALK, de segunda generación que en estudios fase I demostró inducir altas tasas de respuestas en pacientes pediátricos y adultos ALK⁺⁽⁶²⁾.

Los inhibidores de ALK se utilizan actualmente para inducir una segunda remisión en pacientes con LACG refractarios o recaídos antes del trasplante de médula ósea⁽⁶³⁾.

Terapia anti CD30

Brentuximab vedotin (BV) es un anticuerpo anti-CD30 conjugado con un agente quimioterápico (ACD) antimicrotubular. En un estudio en fase final con 58 pacientes con LACG recidivante o refractario tratados con BV las tasas de respuesta general y completa (RC) fueron del 86% y 57%, respectivamente⁽⁵⁹⁾. En una actualización que evalúa 4 años de seguimiento de los pacientes incluidos en este ensayo, la mediana de supervivencia libre de progresión de los pacientes que alcanzaron la RC fue 26,3 meses y la SG a 4 años fue del 64%.

Actualmente están pendientes los resultados del estudio inicial del COG, que investiga la seguridad de brentuximab vedotin y crizotinib en combinación

con quimioterapia del protocolo ALCL99 en pacientes con ALCL en estadio III-IV menores de 21 años (NCT01979536).

Terapia inmune

El sistema inmunológico desempeña un papel importante en el control de ALCL ALK +. Se han detectado anticuerpos contra ALK en pacientes con LACG ALK +, tanto al diagnóstico como durante la remisión. También se ha demostrado que la tirosina quinasa NPM1 / ALK quimérica promueve la evasión inmunológica mediante la inducción de la muerte programada⁽⁶⁶⁾. Todos los LNH LACG ALK+ muestran un aumento de la expresión de PDL1 / 2, lo que provoca una disminución de la respuesta de las células T, la inhibición de PDL1/2 mejoraría el control inmunológico^(66,67).

3-Linfoma linfoblástico (LL)

El LL es un subtipo de LNH que se presenta con frecuencia en CAYA. Es una forma agresiva de LNH. Más del 75% expresan linaje T, siendo los B menos frecuentes. La edad media al debut es 9 años^(68,69,70,71). La incidencia y la presentación difieren en la población AYA en comparación con los niños más pequeños.

El LLT se presenta con mayor frecuencia ($\geq 90\%$) en AYA con masa mediastinal o ganglios linfáticos, afecta médula ósea al diagnóstico en un 25%, tiende a presentarse con enfermedad en estadio avanzado ($\geq$ Etapa III 75%). Presenta compromiso de SNC el 5% de los pacientes.

El LLB se presenta en niños pequeños generalmente con compromiso ganglionar y abdominal⁽⁷²⁾.

Las características morfológicas de LL son indistinguibles de las observadas en las células B precursoras o leucemia linfoblástica aguda de células T (LLA)^(73,74).

El fenotipo T-ALL de diferenciación muy temprana, denominado leucemia linfoblástica aguda early T (ETP-ALL) ocurre en 10 a 15% de los pacientes con T-ALL y se define por la expresión de CD7 y CD5 débil (ocasionalmente CD3 citoplasmático) y ausencia de CD1a, CD4 y CD8^(75,76,77). Se asocia con una mayor incidencia de mutaciones de tipo mieloiide más que con NOTCH1⁽⁷⁸⁾. Inicialmente se reportó que ETP-ALL estaba asociada con un aumento de fracasos de la inducción, pero con los protocolos de tratamiento actuales no hay diferencia significativa en

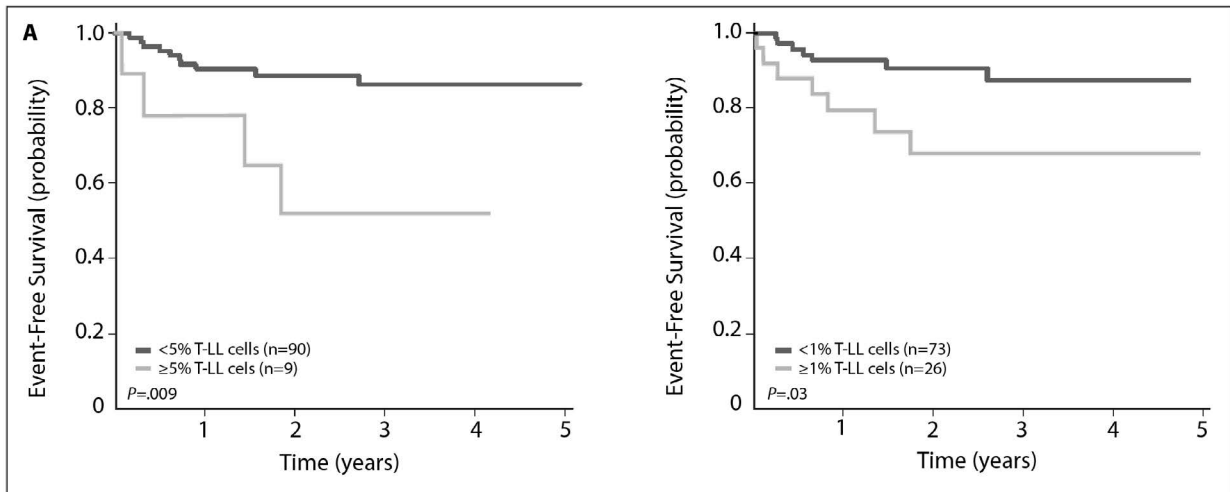
el pronóstico⁽⁷⁹⁾. En el protocolo COG A5971 los LL T con fenotipo ETP se presentan con una frecuencia de 14%, similar a LLA T⁽⁷⁴⁾. Pacientes pediátricos que presentan mutaciones en NOTCH y FBXW7 tienen resultados superiores: Esto se da en pacientes más jóvenes y menos frecuentemente en el grupo AYA. Por el contrario, la pérdida de heterocigocidad en el cromosoma 6q14-24 se asocia con un riesgo significativamente mayor de recaída en CAYAs^(80,81,82).

Es controvertido si LL B es una entidad distinta o en un espectro de LLA B a nivel molecular. El mayor análisis genético molecular de muestras de LL B es el de Meyer y col (2017). Se observaron deleciones de CDKN2A / B en el 26% de los casos de LL B y en el 20% de los casos de LLA B. La incidencia de deleciones IKZF1 y PAX5 también fue similar. Sin embargo, ETV6 y EBF1 fueron menos comunes en LL B. El 48% de las muestras de LL B eran hiperdiploides, ninguna mostró trisomías triples de los cromosomas 4, 10 y 17 características de LLA B. Además, el 22% de los LL B mostraron deleciones de receptor gamma de inmunoglobulina (un marcador del reordenamiento de las cadenas livianas normales), pero sólo en el 1% de las muestras de LLA B, lo que aumenta la posibilidad de que el LL B derive de una etapa más madura en la ontogenia de células B⁽⁸³⁾. Se necesitan más trabajos para caracterizar las bases moleculares de LLB e identificar alteraciones genéticas que podrían usarse para la estratificación de grupos de riesgo.

La estratificación de riesgo en la LLA se basa principalmente en la detección de la enfermedad residual mínima (ERM) en sangre periférica y/o MO. Ésta se cuantificó por citometría de flujo multiparamétrica (CFM) o reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR) mediante reordenamientos de genes de TCR, específicos para cada paciente. Ambos métodos también se han utilizado para la detección de la enfermedad diseminada mínima (EMD) en sangre periférica y MO al diagnóstico en LL B⁽²³⁾.

Por citometría de flujo se puede detectar EMD en LLT, que es un método valioso para monitorear la reducción de la enfermedad durante la terapia. Coustan-Smith E y col. (2009) demostraron que el 72% de los pacientes con LL T tenía niveles detectables ($> 0,01\%$) de linfoblastos T en MO. El nivel de enfermedad detectable se correlacionó con el resultado, mostrando una SLE a 2 años de 68% para pacientes con $\geq 1\%$ de linfoblastos en la MO versus

Figura 6. Sobrevida libre de eventos según niveles de enfermedad mínima diseminada en linfoma linfoblástico de células T (T-LL) en médula ósea al diagnóstico, medido por citometría de flujo: (A) <5% y >5% de células T-LL; (B) <1% y >1% de células T-LL.

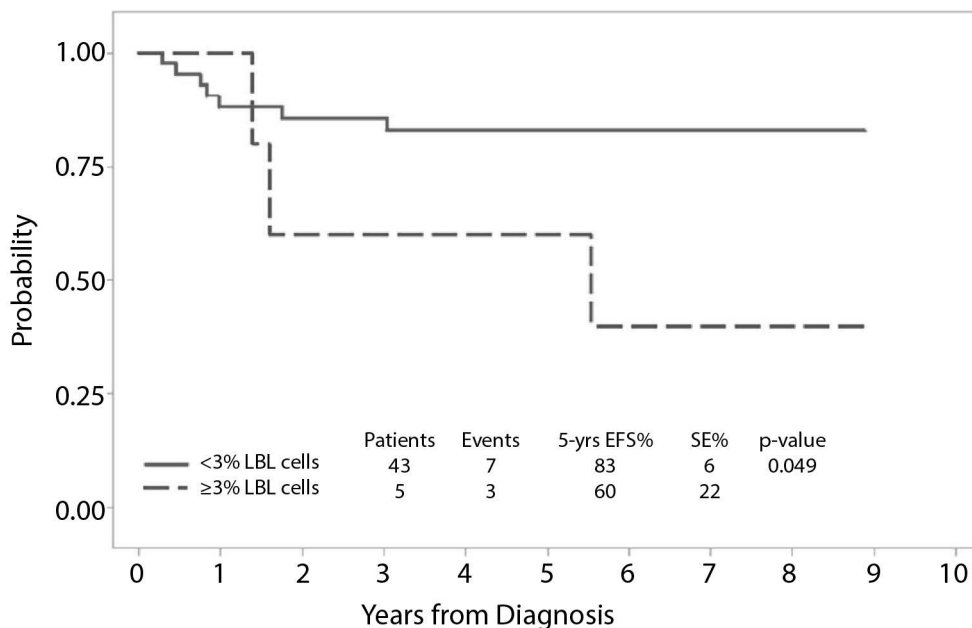


91% para pacientes con una participación <1% ($p=0,031$)⁽²³⁾ (Figura 6).

En un estudio más reciente realizado por el grupo de estudio italiano AIEOP, se evaluó el valor pronóstico de EMD medida por citometría de flujo multiparamétrica (CFM) en muestras de sangre periférica y MO en una cohorte de 65 niños con linfoma linfoblástico

T. La EMD se detectó en el 49% (32/65) de las muestras de MO, mientras que sólo el 21% (14/65) fue positivo en la evaluación morfológica estándar. Usando un nivel de corte de EMD del 3% por CFM, la SLE a 5 años fue del 60% para pacientes con EMD > 3% de células vs 83% para pacientes con EMD < 3% ($p=0,04$). Se necesitan ensayos prospectivos adicionales

Figura 7. SLE según EMD al diagnóstico de LL medido por CFM. El nivel de corte de 3% de blastos. 33/43 pacientes con LL con EMD <3% tenían inmunofenotipo T; 4/5 pacientes con LL con EMD > 3% tenían inmunofenotipo T



para determinar el nivel de EMD significativa como marcador pronóstico(84) (Figura 7).

Con las terapias actuales, la SG ha mejorado significativamente en la mayoría de los pacientes AYAs, incluidos aquéllos con enfermedad en estadio avanzada. Se esperan SLE de 80-85% utilizando regímenes modificados de LLA^(68,70,71,72,85). La necesidad de radioterapia local se ha eliminado con excelentes resultados recientes. La profilaxis del SNC y dosis altas de metotrexato demostró ser igual o aún más efectiva que irradiación craneal, evitando así la misma^(70,71).

El tratamiento para la enfermedad en estadios iniciales (I / II) en el grupo AYA presentaba resultados variados, con SG de 40 a 60%⁽⁷²⁾. Sin embargo, el pronóstico ha mejorado significativamente desde la introducción de tratamiento similares a LLA^(68,77,76,75,79,75).

El tratamiento para LL en estadio avanzado (III / IV) en AYA también ha variado con probabilidad de SLE entre 30 y 60%^(72,78,80,81). Los resultados parecen ser superiores en AYAs con el uso de protocolos pediátricos, particularmente tipo LLA. Esto resulta en una

SLE de más del 70% en estudios recientes⁽²³⁾.

A pesar de los avances significativos, los niños y AYAs con LL-T recidivante tienen un pronóstico sombrío, con tasas de EFS a 3 años de <15%. Nuevos agentes como neralalbina y borteomib son estudiados en malignidades T.

Conclusión

El pronóstico es muy bueno en pacientes AYA con LNH. La consideración de este grupo etario como una población distinta al diagnóstico y los regímenes de tratamiento basados en protocolos pediátricos, diseñados específicamente para LNH en AYAs llevaron a mejorar resultados. Nuevos tratamientos, incluyendo inmunoterapias y terapias dirigidas, son prometedoras para mejorar resultados en los próximos años. El acercamiento de la medicina traslacional a esta patología se ha convertido en un nuevo paradigma y desafío, con la intención de acortar la distancia entre la investigación básica y la clínica.

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

Bibliografía

1. Cairo M S & Pinkerton R. Childhood, adolescent and young adult non-Hodgkin lymphoma: state of the science. *British Journal of Haematology*. 2016; 173, 507-530.
2. Oeffinger K C et al. Chronic health conditions in adult survivors of childhood cancer. *N Engl J Med*. 2006;355, 1572-1582.
3. Dunleavy K & Gross TG. Management of aggressive B-cell NHLs in the AYA population: an adult vs pediatric perspective. *Blood*. 2018;132, 369-375.
4. Bhakta N et al. The cumulative burden of surviving childhood cancer: an initial report from the St Jude Lifetime Cohort Study (SJLIFE). *Lancet*. 2017; 390, 2569-2582.
5. Giulino-Roth L & Goldman S. Recent molecular and therapeutic advances in B-cell non-Hodgkin lymphoma in children. *Br. J. Haematol*. 2016;173, 531-544.
6. Bleyer A, Ferrari A, Whelan J & Barr RD. Global assessment of cancer incidence and survival in adolescents and young adults. *Pediatric Blood & Cancer*. 2017; 64, e26497.
7. Hochberg J, El-Mallawany NK, Brugieres L, McMillan A & Cairo MS. Non-Hodgkin Lymphoma. *Cancer in Adolescents and Young Adults* 69-117 (2017). doi:10.1007/978-3-319-33679-4_4 sería esta: Hochberg, J., El-Mallawany, N. K., Brugieres, L., McMillan, A., & Cairo, M. S. (2016). Non-Hodgkin Lymphoma. *Pediatric Oncology*, 69-117. doi:10.1007/978-3-319-33679-4_4 .
8. Reiter A & Klapper W. Recent advances in the understanding and management of diffuse large B-cell lymphoma in children. *Br J Haematol*. 2008;142, 329-347.
9. Miles RR, Arnold S & Cairo MS. Risk factors and treatment of childhood and adolescent Burkitt lymphoma/leukaemia. *British Journal of Haematology*. 2012; 156, 730-743.
10. Miles RR et al. Pediatric diffuse large B-cell lymphoma demonstrates a high proliferation index, frequent c-Myc protein expression, and a high incidence of

- germinal center subtype: Report of the French-American-British (FAB) international study group. *Pediatric Blood & Cancer*. 2008; 51,369-374.
11. Rosenwald A et al. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 2002;346, 1937-1947.
 12. Shipp MA et al. Diffuse large B-cell lymphoma outcome prediction by gene-expression profiling and supervised machine learning. *Nature Medicine*. 2002;8, 68-74.
 13. Oschlies I. Diffuse large B-cell lymphoma in pediatric patients belongs predominantly to the germinal-center type B-cell lymphomas: a clinicopathologic analysis of cases included in the German BFM (Berlin-Frankfurt-Munster) Multicenter Trial. *Blood*. 2006;107, 4047-4052.
 14. Poirel HA et al. Specific cytogenetic abnormalities are associated with a significantly inferior outcome in children and adolescents with mature B-cell non-Hodgkin's lymphoma: results of the FAB/LMB 96 international study. *Leukemia*. 2009; 23, 323-331.
 15. Thunberg U et al. BCL2 expression in de novo diffuse large B-cell lymphoma partly reflects normal differences in age distribution. *Br J Haematol*. 2009;146, 683-684.
 16. Jaffe ES, Harris NL, Stein H & Isaacson PG. Classification of lymphoid neoplasms: the microscope as a tool for disease discovery. *Blood*. 2008; 112, 4384-4399.
 17. Klapper W et al. Molecular profiling of pediatric mature B-cell lymphoma treated in population-based prospective clinical trials. *Blood*. 2008;112, 1374-1381.
 18. Dave SS et al. Molecular diagnosis of Burkitt's lymphoma. *N Engl J Med*. 2006;354, 2431-2442.
 19. Shiramizu B, Mussolin L, Woessmann W & Klapper W. Paediatric non-Hodgkin lymphoma - perspectives in translational biology. *Br J Haematol*. 2016;173, 617-624.
 20. Damm-Welk C et al. Prognostic significance of circulating tumor cells in bone marrow or peripheral blood as detected by qualitative and quantitative PCR in pediatric NPM-ALK-positive anaplastic large-cell lymphoma. *Blood*. 2007;110, 670-677.
 21. Agsalda M, Kusao I, Troelstrup D & Shiramizu B. Screening for residual disease in pediatric burkitt lymphoma using consensus primer pools. *Adv Hematol*. 2009;2009:412163.
 22. Miles RR, Shah RK & Kimble Frazer J. Molecular genetics of childhood, adolescent and young adult non-Hodgkin lymphoma. *British Journal of Haematology*. 2016;173, 582-596.
 23. Coustan-Smith E et al. Minimal Disseminated Disease in Childhood T-Cell Lymphoblastic Lymphoma: A Report From the Children's Oncology Group. *Journal of Clinical Oncology*. 2009;27, 3533-3539.
 24. Mussolin L et al. Minimal Disseminated Disease in High-Risk Burkitt's Lymphoma Identifies Patients With Different Prognosis. *Journal of Clinical Oncology*. 2011;29, 1779-1784.
 25. Rosolen A et al. Revised International Pediatric Non-Hodgkin Lymphoma Staging System. *J Clin Oncol*. 2015;33, 2112-2118.
 26. Sandlund JT et al. International Pediatric Non-Hodgkin Lymphoma Response Criteria. *J Clin Oncol*. 2015;33, 2106-2111.
 27. Wu FT, Lu L, Xu W & Li JY. Circulating tumor DNA: clinical roles in diffuse large B cell lymphoma. *Ann. Hematol*. 2019;98, 255-269.
 28. Kurtz DM. et al. Circulating Tumor DNA Measurements As Early Outcome Predictors in Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol*. 2018;36, 2845-2853.
 29. Woessmann W & Quintanilla-Martinez L. Rare mature B-cell lymphomas in children and adolescents. *Hematol. Oncol*. 2019;37 Suppl 1, 53-61.
 30. Attarbaschi A. Pediatric-Type Follicular Lymphoma (PTFL). Non-Hodgkin's Lymphoma in Childhood and Adolescence. 2019;213-219. doi:10.1007/978-3-030-11769-6_16
 31. Patte C et al. Results of the randomized international FAB/LMB96 trial for intermediate risk B-cell non-Hodgkin lymphoma in children and adolescents: it is possible to reduce treatment for the early responding patients. *Blood*. 2007;109, 2773-2780.
 32. Cairo MS et al. Long-term follow-up of short intensive multiagent chemotherapy without high-dose methotrexate ('Orange') in children with advanced non-lymphoblastic non-Hodgkin's lymphoma: a Children's Cancer Group Report. *Leukemia*. 2002;16, 594-600.
 33. Cairo MS et al. Results of a randomized international study of high risk central nervous system B-non-Hodgkin's lymphoma and B-acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents. *Blood*. 2006; doi:10.1182/blood-2006-07-036665.

34. Cairo MS et al. Advanced Stage, Increased Lactate Dehydrogenase, and Primary Site, but Not Adolescent Age (≥ 15 Years), Are Associated With an Increased Risk of Treatment Failure in Children and Adolescents With Mature B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma: Results of the FAB LMB 96 Study. *Journal of Clinical Oncology*. 2012;30, 387-393.
35. Cairo M et al. Overall survival of children and adolescents with mature B cell non-Hodgkin lymphoma who had refractory or relapsed disease during or after treatment with FAB/LMB 96: A report from the FAB/LMB 96 study group. *British Journal of Haematology*. 2018;182, 859-869.
36. Goldman S et al. Rituximab and FAB/LMB 96 chemotherapy in children with Stage III/IV B-cell non-Hodgkin lymphoma: a Children's Oncology Group report. *Leukemia*. 2013;27, 1174-1177.
37. Frazer JK et al. Excellent outcomes in children and adolescents with CNS Burkitt lymphoma or other mature B-NHL using only intrathecal and systemic chemoimmunotherapy: results from FAB/LMB96 and COG ANHL01P1. *Br J Haematol*. 2019;185, 374-377.
38. Goldman S et al. Rituximab with chemotherapy in children and adolescents with central nervous system and/or bone marrow-positive Burkitt lymphoma/leukaemia: a Children's Oncology Group Report. *Br J Haematol*. 2014;167, 394-401.
39. Cairo MS. Rituximab in the treatment of childhood mature B-cell lymphoma: 'Where do we go from here'. *Br J Haematol*. 2019;185, 1017-1020.
40. Satwani P et al. Sequential myeloablative autologous stem cell transplantation and reduced intensity allogeneic hematopoietic cell transplantation is safe and feasible in children, adolescents and young adults with poor-risk refractory or recurrent Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma. *Leukemia*. 2015;29, 448-455.
41. El-Mallawany NK & Cairo MS. Advances in the diagnosis and treatment of childhood and adolescent B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2015;13, 113-123.
42. Savage KJ. The molecular signature of mediastinal large B-cell lymphoma differs from that of other diffuse large B-cell lymphomas and shares features with classical Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2003;102, 3871-3879.
43. Dunleavy K & Wilson WH. Primary mediastinal B-cell lymphoma and mediastinal gray zone lymphoma: do they require a unique therapeutic approach? *Blood*. 2015;125, 33-39.
44. Staudt LM II. Therapy of DLBCL based on genomics. *Hematol. Oncol*. 2013;31 Suppl 1, 26-28.
45. Awasthi A et al. Obinutuzumab (GA101) compared to rituximab significantly enhances cell death and antibody-dependent cytotoxicity and improves overall survival against CD20 rituximab-sensitive/-resistant Burkitt lymphoma (BL) and precursor B-acute lymphoblastic leukaemia. *British Journal of Haematology*. 2015;171, 763-775.
46. Morschhauser FA et al. Obinutuzumab (GA101) monotherapy in relapsed/refractory diffuse large b-cell lymphoma or mantle-cell lymphoma: results from the phase II GAUGUIN study. *J Clin Oncol*. 2013;31, 2912-2919.
47. Swerdlow SH et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127, 2375-2390.
48. Sibon D et al. Long-Term Outcome of Adults With Systemic Anaplastic Large-Cell Lymphoma Treated Within the Groupe d'Étude des Lymphomes de l'Adulte Trials. *Journal of Clinical Oncology*. 2012;30, 3939-3946.
49. Parrilla Castellar ER et al. ALK-negative anaplastic large cell lymphoma is a genetically heterogeneous disease with widely disparate clinical outcomes. *Blood*. 2014;124, 1473-1480.
50. Brugières L et al. Impact of the methotrexate administration dose on the need for intrathecal treatment in children and adolescents with anaplastic large-cell lymphoma: results of a randomized trial of the EICNHL Group. *J Clin Oncol*. 2009;27, 897-903.
51. Mussolin L et al. Use of minimal disseminated disease and immunity to NPM-ALK antigen to stratify ALK-positive ALCL patients with different prognosis. *Leukemia*. 2013;27, 416-422.
52. Williams D et al. Central nervous system involvement in anaplastic large cell lymphoma in childhood: results from a multicentre European and Japanese study. *Pediatr. Blood Cancer*. 2013;60, E118-21.
53. Lamant L et al. Prognostic Impact of Morphologic and Phenotypic Features of Childhood ALK-Positive Anaplastic Large-Cell Lymphoma: Results of the ALCL99 Study. *Journal of Clinical Oncology*. 2011;29, 4669-4676.
54. Damm-Welk C et al. Early assessment of minimal residual disease identifies patients at very high relapse risk in NPM-ALK-positive anaplastic large-cell lymphoma. *Blood*. 2014;123, 334-337.

55. Alexander S et al. Advanced stage anaplastic large cell lymphoma in children and adolescents: Results of ANHL0131, a randomized phase III trial of APO versus a modified regimen with vinblastine: A report from the children's oncology group. *Pediatric Blood & Cancer*. 2014;61, 2236-2242.
56. Cederleuf H et al. The addition of etoposide to CHOP is associated with improved outcome in ALK adult anaplastic large cell lymphoma: A Nordic Lymphoma Group study. *British Journal of Haematology*. 2017;178, 739-746.
57. Schmitz N 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.
58. Deley MCL et al. Vinblastine in Children and Adolescents With High-Risk Anaplastic Large-Cell Lymphoma: Results of the Randomized ALCL99-Vinblastine Trial. *Journal of Clinical Oncology*. 2010;28, 3987-3993.
59. Pro B et al. Brentuximab Vedotin (SGN-35) in Patients With Relapsed or Refractory Systemic Anaplastic Large-Cell Lymphoma: Results of a Phase II Study. *Journal of Clinical Oncology*. 2012;30, 2190-2196.
60. Turner SD, Lamant L, Kenner L & Brugières L. Anaplastic large cell lymphoma in paediatric and young adult patients. *British Journal of Haematology*. 2016;173, 560-572.
61. Gambacorti Passerini C et al. Crizotinib in advanced, chemoresistant anaplastic lymphoma kinase-positive lymphoma patients. *J Natl Cancer Inst*. 2014;106, djt378.
62. Richly H et al. Ceritinib in patients with advanced anaplastic lymphoma kinase-rearranged anaplastic large-cell lymphoma. *Blood*. 2015;126, 1257-1258.
63. Gambacorti-Passerini C, Mussolin L & Brugieres L. Abrupt Relapse of ALK-Positive Lymphoma after Discontinuation of Crizotinib. *N Engl J Med*. 2016;374, 95-96.
64. Pro B et al. Five-year results of brentuximab vedotin in patients with relapsed or refractory systemic anaplastic large cell lymphoma. *Blood*. 2017;130, 2709-2717.
65. Locatelli F et al. Brentuximab vedotin for paediatric relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma and anaplastic large-cell lymphoma: a multicentre, open-label, phase 1/2 study. *Lancet Haematol*. 2018;5, e450-e461.
66. Marzec M et al. Oncogenic kinase NPM/ALK induces through STAT3 expression of immunosuppressive protein CD274 (PD-L1, B7-H1). *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105, 20852-20857.
67. Roemer MGM et al. PD-L1 and PD-L2 Genetic Alterations Define Classical Hodgkin Lymphoma and Predict Outcome. *Journal of Clinical Oncology*. 2016;34, 2690-2697.
68. Amylon MD et al. Intensive high-dose asparaginase consolidation improves survival for pediatric patients with T cell acute lymphoblastic leukemia and advanced stage lymphoblastic lymphoma: a Pediatric Oncology Group study. *Leukemia*. 1999;13, 335-342.
69. Memorial Sloan Kettering Cancer Center. The SAGE Encyclopedia of Cancer and Society. doi:10.4135/9781483345758.n370.
70. Reiter, A. et al. Intensive ALL-type therapy without local radiotherapy provides a 90% event-free survival for children with T-cell lymphoblastic lymphoma: a BFM group report. *Blood*. 2000;95, 416-421.
71. Tubergen DG et al. Comparison of treatment regimens for pediatric lymphoblastic non-Hodgkin's lymphoma: a Childrens Cancer Group study. *J Clin. Oncol*. 1995;13, 1368-1376.
72. Sandlund JT, Downing JR & Crist WM. Non-Hodgkin's lymphoma in childhood. *N Engl J Med*. 1996;334, 1238-1248.
73. Perkins SL. Work-up and Diagnosis of Pediatric Non-Hodgkin's Lymphomas. *Pediatric and Developmental Pathology*. 2000;3, 374-390.
74. Patel JL et al. The immunophenotype of T-lymphoblastic lymphoma in children and adolescents: a Children's Oncology Group report. *British Journal of Haematology*. 2012;159, 454-461.
75. Coustan-Smith E et al. Early T-cell precursor leukaemia: a subtype of very high-risk acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet Oncol*. 2009;10, 147-156.
76. Zhang J et al. The genetic basis of early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. *Nature*. 2012;481, 157-163.
77. You MJ, James You M, Jeffrey Medeiros L & Hsi ED. T-Lymphoblastic Leukemia/Lymphoma. *American Journal of Clinical Pathology*. 2015;144, 411-422.
78. Haydu JE & Ferrando AA. Early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. *Curr Opin Hematol*. 2013;20, 369-373.

79. Patrick K et al. Outcome for children and young people with Early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia treated on a contemporary protocol, UKALL 2003. *Br J Haematol.* 2014;166, 421-424.
80. Bonn BR et al. Incidence and prognostic relevance of genetic variations in T-cell lymphoblastic lymphoma in childhood and adolescence. *Blood.* 2013;121, 3153-3160.
81. Burkhardt B et al. Pediatric precursor T lymphoblastic leukemia and lymphoblastic lymphoma: Differences in the common regions with loss of heterozygosity at chromosome 6q and their prognostic impact. *Leuk Lymphoma.* 2008; 49, 451-461.
82. Burkhardt B et al. Loss of heterozygosity on chromosome 6q14-q24 is associated with poor outcome in children and adolescents with T-cell lymphoblastic lymphoma. *Leukemia.* 2006;20, 1422-1429.
83. Meyer JA et al. Genomic characterization of pediatric B-lymphoblastic lymphoma and B-lymphoblastic leukemia using formalin-fixed tissues. *Pediatric Blood & Cancer.* 2017; 64, e26363.
84. Mussolin L et al. Detection and role of minimal disseminated disease in children with lymphoblastic lymphoma: The AIEOP experience. *Pediatr Blood Cancer.* 2015;62, 1906-1913.
85. Anderson JR et al. Long-term follow-up of patients treated with COMP or LSA2L2 therapy for childhood non-Hodgkin's lymphoma: a report of CCG-551 from the Childrens Cancer Group. *J Clin Oncol.* 1993;11, 1024-1032.



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.

Novedades en el diagnóstico citogenético del mieloma múltiple

News in the cytogenetic diagnosis of multiple myeloma

Stella F^{1,2}; Pedrazzini E^{1,3}; Slavutsky I¹

¹ Laboratorio de Genética de Neoplasias Linfoides, Instituto de Medicina Experimental, CONICET-Academia Nacional de Medicina

² Área de Genética, Servicio de Anatomía Patológica, Htal. Posadas

³ Universidad del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires

islavutsky@hematologia.anm.edu.ar



**GAMM. DESAFÍOS
EN EL MANEJO DEL
MIELOMA HOY**

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 54-59
Octubre 2019

Palabras claves: mieloma múltiple,
alteraciones citogenéticas,
mutaciones.

Keywords: multiple myeloma,
cytogenetic alterations,
mutations.

Introducción

El mieloma múltiple (MM) se origina a partir de un proceso de transformación de múltiples pasos con acumulación progresiva de eventos genéticos que favorecen la proliferación y expansión del clon maligno⁽¹⁻⁴⁾. El estudio de dichas alteraciones genéticas ha permitido la definición de subgrupos específicos y provisto las bases para la identificación de genes involucrados en la iniciación y progresión de esta entidad.

Un aspecto característico de esta patología es la variabilidad en la evolución clínica de los pacientes, con casos que presentan larga sobrevida con poco requerimiento terapéutico y otros que muestran rápida progresión de la enfermedad a pesar de los tratamientos específicos, no siendo suficientes los sistemas de estadificación y los parámetros biológicos disponibles para predecir este comportamiento diferente. En este contexto, los estudios genéticos constituyen herramientas de gran utilidad en la comprensión de dicha heterogeneidad, así como en la identificación de marcadores que permitan definir

en forma más precisa el curso clínico de la enfermedad y su respuesta al tratamiento, siendo primordiales al momento del diagnóstico, en la progresión/recaída de la enfermedad, así como en la evaluación de la respuesta al tratamiento^(1,5).

Diferentes estudios han demostrado que el análisis citogenético convencional en MM permite detectar alteraciones cromosómicas en el 30-40% de los casos, valores que alcanzan el 80% cuando se emplea la técnica de FISH (*Fluorescence In Situ Hybridization*). En este contexto, a nivel cromosómico podemos distinguir anomalías primarias específicas, asociadas al desarrollo de la patología, presentes inclusive en estadios asintomáticos, y anomalías secundarias relacionadas a la progresión de la enfermedad^(1,5). Las anomalías primarias permiten dividir a los pacientes en dos grandes grupos (Tabla 1): hiperdiploides (42-45% de los casos) con ganancia de cromosomas, considerados de buen pronóstico, y no hiperdiploides (35-40%), con número modal variable, desde hipodiploide hasta pseudotetraploides, asociados a peor evolución clínica. Estos datos sustentan la existen-

Tabla 1. Grupos citogenéticos en MM

Subgrupo	Frecuencia (%)	Características clínicas
Hiperdiploide	42-45	Mayor edad Lesiones óseas Pronóstico favorable
No-hiperdiploide	35-40	Individuos más jóvenes Enfermedad agresiva
Combinado hiperdiploide/ t(14q32)	10-15	Variable
Monosomía 14 sola	4-5	Variable
Otras alteraciones	5-10	Variable
Cariotipo y FISH normal	3-5	Favorable

Modificado de Rajkumar 2018 ⁽⁸⁾

cia de dos caminos diferentes en la patogénesis del MM, habiéndose detectado, asimismo, alta heterogeneidad en cada grupo de riesgo. Dentro del grupo hiperdiploide, la ganancia de cromosomas no es al azar, siendo más frecuentes las trisomías de los cromosomas impares 3, 5, 9, 11, 15, 19 y 21, con baja incidencia de alteraciones estructurales. En contraposición, los MM no hiperdiploides (Tabla 2) están asociados a translocaciones recurrentes que involucran el locus IGH a nivel de 14q32 y cinco diferentes oncogenes: *FGFR3/MMSET* (4p16), *CCND3* (6p21), *CCND1* (11q13), *MAF* (16q23) y *MAFB* (20q12)⁽⁶⁻⁸⁾. Asimismo, existe un subgrupo de pacientes con cariotipos combinados (hiperdiploide con translocaciones 14q32) (10-15%), cuyo comportamiento a nivel clínico es heterogéneo. Recientemente, Sidana et al⁽⁹⁾ han caracterizado pacientes con cariotipo tetraploide (4n), de baja frecuencia (6% de los MM al diagnóstico) y mal pronóstico, asociados a mayor infiltración de células plasmáticas en la médula ósea, aumento de alteraciones de alto riesgo por FISH y mayor proporción de monosomía 13 que los casos no tetraploides.

En cuanto a las anomalías secundarias, las mismas se encuentran en baja frecuencia en las entidades indolentes y están relacionadas con progresión de la enfermedad^(1,5). Entre ellas encontramos la delección/monosomía del cromosoma 13 (45% de los pacientes), la delección del brazo corto del cromosoma 17 a nivel de 17p13, lugar donde se ubica el gen TP53 (8-10%), las alteraciones del cromosoma 1: ganancia/amplificación del brazo largo, involucrando fundamentalmente a la banda 1q21 (45-60%) y pérdida

de parte del brazo corto, particularmente a nivel de 1p32 (30-40%) y, más recientemente, la desregulación del oncogén *MYC* (8q24)^(7,10,11) y las delecciones a nivel de 12p13.31, lugar donde mapea el gen *CD27*^(12,13). Si bien la activación de *MYC* fue considerada inicialmente como un evento tardío, estudios posteriores observaron un aumento de su actividad asociada a la transición de gammapatía monoclonal de significado incierto a MM⁽¹⁴⁾. Su desregulación se observa en aproximadamente el 15% de los casos al diagnóstico, llegando al 45% en los estadios avanzados, y se origina debido a translocaciones secundarias entre *MYC* y el locus *IGH* (50% de los casos) o rearrreglos que implican otros genes⁽¹⁵⁾. La correlación con la evolución clínica muestra que los pacientes con activación de *MYC* presentan enfermedad más agresiva y corta sobrevida^(11,14), siendo esta asociación más evidente en los casos con cariotipos hiperdiploides⁽¹⁶⁾. En cuanto a las alteraciones a nivel de 12p13.31, la técnica de microarrays permitió evidenciar una alta frecuencia de desbalances genómicos (ganancias y pérdidas de material cromosómico) en este locus⁽¹⁷⁾. *CD27* pertenece a la superfamilia de receptores de necrosis tumoral y, como otros miembros de la misma, activa a la quinasas *JUN* y a *NF-kB* (*nuclear factor kappa B*)⁽¹⁸⁾; se expresa en un subgrupo de células B y puede mediar la apoptosis de células hematopoyéticas⁽¹⁹⁾. En cuanto a su valor pronóstico, los datos son contradictorios; mientras que algunos autores lo asocian a un pronóstico adverso y una sobrevida corta⁽¹⁹⁻²¹⁾, otros sostienen que podría ser un indicador de inestabilidad cromosómica⁽¹²⁾.

Tabla 2. Subgrupos de alteraciones citogenéticas en MM no hiperdiploide

Subgrupo	Genes involucrados	Frecuencia (%)	Riesgo
Rearreglos de ciclinas			Estándar
t(11;14)(q13;q32)	<i>CCND1/IGH</i>	15-20	
t(6;14)(p21;q32)	<i>CCND3/IGH</i>	3-6	
t(12;14)(p13;q32)	<i>CCND2/IGH</i>	<1	
t(4;14)(p16;q32)	<i>FGFR3-MMSET/IGH</i>	6-15	Intermedio
Rearreglos de MAF			Alto
t(14;16)(q32;q23)	<i>IGH/MAF</i>	4-5	
t(14;20)(q32;q11)	<i>IGH/MAFB</i>	1-2	
t(8;14)(q24.3;q32)	<i>MAFA/IGH</i>	<1	

CCND: ciclina D; IGH: inmunoglobulin heavy chain; FGFR3: fibroblast growth factor receptor 3; MMSET: multiple myeloma SET domain; MAF: musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene

Por otra parte, un trabajo reciente⁽²²⁾ ha permitido identificar un nuevo subgrupo de pacientes con MM de alto riesgo con enfermedad muy agresiva, características biológicas y clínicas específicas y muy corta sobrevida libre de progresión y global a pesar de los nuevos tratamientos, denominados MM doble *hit*. Los mismos corresponden a aproximadamente el 6% del total de los casos, e incluyen pacientes con: a) inactivación bialélica de *TP53* (deleción en un alelo y mutación en el otro) y b) estadio clínico ISS III (*International Staging System III*) con amplificación de *CKS1B* (1q21) (≥ 4 copias). En nuestra experiencia, hemos detectado tres casos con MM doble *hit* con ISS III y amplificación de 1q21, todos ellos con muy mala evolución clínica y corta sobrevida. Más recientemente, se incluyó entre los MM doble *hit* a los pacientes con cariotipo hiperhaploide, una alteración numérica rara, que presenta entre 24 y 34 cromosomas, y corresponde al 0,25% de los casos con MM al diagnóstico⁽²³⁾. La presencia de cariotipos hiperhaploides es un evento muy poco frecuente en MM^(24,25), pero es observado en leucemias agudas y algunos tumores sólidos⁽²⁶⁾. En MM, el clon hiperhaploide se caracteriza por presentar monosomía de numerosos cromosomas, en tanto que los cromosomas impares, asociados a trisomías en los casos hiperdiploides, permanecen disómicos. Este subgrupo de pacientes se encuentra asociado a monosomía del cromosoma 17 y usualmente presenta mutación de *TP53* en el alelo restante, llevando a inactivación bialélica de dicho gen, quedando por lo tanto incluido en el grupo de MM doble *hit* de muy alto riesgo⁽²²⁾. Si bien no se conoce exactamente el

mecanismo de origen de estos cariotipos, Walker et al⁽²²⁾ sugieren, en base a estudios secuenciales, que el cariotipo hiperhaploide se originaría por la pérdida de cromosomas a partir de un cariotipo diploide. Asimismo, diferentes estudios en MM muestran la presencia de alta **heterogeneidad clonal**, aún en estadios iniciales de la enfermedad, reflejando la alta complejidad genética de la patología. Esta característica puede seguir diferentes patrones que van desde la estabilidad clonal en algunos pacientes a la presencia de multiclonalidad en otros^(3,4,27). Esta situación resulta de importancia dada sus implicancias a nivel del tratamiento, en el marco de una medicina adaptada al riesgo, ya que la competencia entre las diferentes poblaciones celulares podría influir en el resultado del mismo, siendo por lo tanto de sumo interés su evaluación.

Finalmente, la introducción de la técnica de secuenciación masiva paralela (NGS; *next generation sequencing*) permitió detectar numerosas mutaciones en los pacientes con MM, que impactan en diferentes caminos de señalización (Tabla 3). Entre ellos cabe destacar las mutaciones de los genes *RAS* (*KRAS*, *NRAS* y *BRAF*) (40% de los casos) que afectan la vía de MAPK asociada a crecimiento y sobrevida celular. En segundo lugar en frecuencia se encuentran las mutaciones de los genes que participan en la desregulación de NF- κ B, tales como *TRAF3*, *CYLD*, *LTB*, *IKBKB*, *BIRC2*, *BIRC3*, *CARD11* y *TRAF3IP1*, que ocurren en alrededor del 20% de los pacientes. Ambos grupos no impactan en la progresión y sobrevida de los pacientes. Asimismo, resultan de interés las mutaciones en los genes que participan

Tabla 3. Mutaciones más frecuentes en MM

Gene	Frecuencia (%)	Vía de señalización/Función
KRAS	20-25	MAPK/Crecimiento y supervivencia celular
NRAS	23-25	MAPK/Crecimiento y supervivencia celular
TP53	8-15	Respuesta al daño al ADN y apoptosis/gen supresor de tumor
DIS3	11	Endoribonucleasa exosomal
FAM46C	11	No definida
BRAF	6-15	MAPK/Crecimiento y supervivencia celular
TRAF3	3-6	NF-κB/Sobrevivencia y proliferación celular
ROBO1	2-5	Receptor de membrana/Desarrollo celular
CYLD	2-3	NF-κB/Sobrevivencia y proliferación celular
EGR1	4-6	Factor de transcripción
SP140	5-7	Respuesta antigénica en células B
FAT3	4-7	Cadherina/Adhesión celular
CCND1	3	Progression del ciclo celular

MAPK: Mitogen-Activated Protein Kinases; NF-κB: nuclear factor kappa B.

Modificado de Kumar & Rajkumar, 2018 ⁽⁵⁾

en el mecanismo de reparación del daño al ADN (*TP53*, *ATM* y *ATR*) (15% de los casos), asociadas a un pronóstico desfavorable, y las de los genes *DIS3* y *FAM46C*, potenciales supresores tumorales, cuyo rol en la oncogénesis del MM no está aun completamente dilucidado^(5,27,28). Estas mutaciones son consideradas actualmente alteraciones secundarias, de aparición tardía y contribuyen en conjunto a la evolución tumoral.

Estos datos ponen de manifiesto la importancia de las alteraciones genéticas en la compleja heterogeneidad que caracteriza al MM y su implicancia en

la presentación clínica y respuesta al tratamiento. Dicha complejidad aumenta considerablemente durante la progresión de la enfermedad con la adquisición de anomalías citogenéticas secundarias y mutaciones que se suman a las alteraciones primarias de cada subtipo, modificando el fenotipo clínico. Sin duda, la profundización de la caracterización biológica del MM resulta de fundamental importancia en el marco de una medicina traslacional, contribuyendo a un mejor diagnóstico y/o pronóstico, y aportando información para nuevos abordajes terapéuticos.

Conflictos de interés: Las autoras declaran no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

1. Fonseca R, Bergsagel PL, Drach J y col. International Myeloma Working Group molecular classification of multiple myeloma: spotlight review. *Leukemia*. 2009; 23: 2210-21.
2. Palumbo A, Anderson K. Multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2011; 364: 1046-60.
3. Morgan GJ, Walker BA, Davies FE. The genetic architecture of multiple myeloma. *Nat Rev Cancer*. 2012; 12: 335-48.
4. Corre J, Munshi N, Avet-Loiseau H. Genetics of multiple myeloma: another heterogeneity level? *Blood*. 2015; 125:1870-6.
5. Kumar SK, Rajkumar SV. The multiple myelomas - current concepts in cytogenetic classification and therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018; 15: 409-21.
6. Rajan AM, Rajkumar SV. Interpretation of cytogenetic results in multiple myeloma for clinical practice. *Blood Cancer J* 2015; 5: e365.
7. Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2016 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*. 2016; 91: 719-34.
8. Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2018 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*. 2018; 93:1091-110.
9. Sidana S, Jevremovic D, Ketterling RP y col. Tetraploidy is associated with poor prognosis at diagnosis in multiple myeloma. *Am J Hematol*. 2019; 94: e117-20.
10. Billecke L, Murga Penas EM, May AM y col. Cytogenetics of extramedullary manifestations in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2013; 161: 87-94.
11. Walker BA, Wardell CP, Brioli A y col. Translocations at 8q24 juxtapose MYC with genes that harbor superenhancers resulting in overexpression and poor prognosis in myeloma patients. *Blood Cancer J*. 2014; 4: e191.
12. Jiang N, Qi C, Yu L y col. Analysis of chromosome 12p deletion in plasma cell dyscrasias. *Leuk Res*. 2012; 36: 32-6.
13. Li F, Xu Y, Deng P y col. Heterogeneous chromosome 12p deletion is an independent adverse prognostic factor and resistant to bortezomib-based therapy in multiple myeloma. *Oncotarget*. 2015; 6: 9434-44.
14. Chng WJ, Huang GF, Chung TH y col. Clinical and biological implications of MYC activation: a common difference between MGUS and newly diagnosed multiple myeloma. *Leukemia*. 2011; 25: 1026-35.
15. Dib A, Gabrea A, Glebov OK, Bergsagel PL, Kuehl WM. Characterization of MYC translocations in multiple myeloma cell lines. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2008; 39: 25-31.
16. Weinhold N, Kirn D, Seckinger A y col. Concomitant gain of 1q21 and MYC translocation define a poor prognostic subgroup of hyperdiploid multiple myeloma. *Haematologica*. 2016; 101: e116-9.
17. Avet-Loiseau H, Li C, Magrangeas F y col. Prognostic significance of copy-number alterations in multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2009; 27: 4585-90.
18. Xie P, Kraus ZJ, Stunz LL, Bishop GA. Roles of TRAF molecules in B lymphocyte function. *Cytokine growth Factor Rev*. 2008; 19: 199-207.
19. Guikema JE, Hovenga S, Vellenga E y col. CD27 is heterogeneously expressed in multiple myeloma: low CD27 expression in patients with high-risk disease. *Br J Haematol*. 2003; 121: 36-43.
20. Morgan TK, Zhao S, Chang KL y col. Low CD27 expression in plasma cell dyscrasias correlates with high-risk disease: an immunohistochemical analysis. *Am J Clin Pathol*. 2006; 126: 545-51.
21. Alaterre E, Raimbault S, Goldschmidt H y col. CD24, CD27, CD36 and CD302 gene expression for outcome prediction in patients with multiple myeloma. *Oncotarget*. 2017; 8: 98931-44.
22. Walker BA, Mavrommatis K, Wardell CP y col. A high-risk, Double-Hit, group of newly diagnosed myeloma identified by genomic analysis. *Leukemia*. 2019; 33: 159-70.
23. Ashby C, Tytarenko RG, Wang Y y col. Poor overall survival in hyperhaploid multiple myeloma is defined by double-hit bi-allelic inactivation of TP53. *Oncotarget*. 2019; 10: 732-7.
24. Sawyer JR, Tian E, Shaughnessy JD Jr y col. Hyperhaploidy is a novel high-risk cytogenetic subgroup in multiple myeloma. *Leukemia*. 2017; 31: 637-44.
25. Hctor VT, Campbell LJ. Hyperhaploid plasma cell myeloma. *Cancer Genet*. 2012; 205: 414-8.

26. Mandahl N, Johansson B, Mertens F, Mitelman F. Disease-associated patterns of disomic chromosomes in hyperhaploid neoplasms. *Genes Chromosomes Cancer*. 2012; 51: 536-44.
27. Manier S, Salem KZ, Park J, Landau DA, Getz G, Ghobrial IM. Genomic complexity of multiple myeloma and its clinical implications. *Nat Rev Clin Oncol*. 2017; 14:100-13.
28. Walker BA, Boyle EM, Wardell CP y col. Mutational spectrum, copy number changes, and outcome: Results of a sequencing study of patients with newly diagnosed myeloma. *J Clin Oncol*. 2015; 33: 3911-20.



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.

Nuevas estrategias para el tratamiento de la β talasemia

Novel strategies for treatment of β thalassaemia

Basack N.

Médica de planta de la Unidad de Hematología del Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, CABA, Argentina

dra_nbasasack@yahoo.com.ar



**TALASEMIA
INTERMEDIA
VS TALASEMIA
MAYOR**

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 60-67
Octubre 2019

Palabras claves: β talasemia,
nuevos tratamientos,
terapia génica.

Keywords: β thalassaemia,
news treatments,
gene therapy.

En los últimos años el conocimiento de los mecanismos fisiopatogénicos en β talasemia ha estimulado la búsqueda de nuevas terapéuticas, las cuales se encuentran en etapa de investigación.

Evaluación de dianas terapéuticas:

1. Mejorar el desequilibrio de α/β globina:

- Inducción farmacológica de Hb fetal.
- Terapia génica
- Edición genómica

2. Mejorar la eritropoyesis ineficaz:

- Ruxolitinib
- Sotatercept
- Luspatercept

3. Mejorar la disregulación del hierro:

- Análogos de la hepcidina
- Inhibidores de Tmprss6
- Inhibidores de la ferroportina

Inducción farmacológica de Hb fetal

La metformina es una medicación aprobada para el manejo de la diabetes tipo 2. Estudios preclínicos

demostraron inducción de la expresión de Hb fetal en cultivos eritroides⁽¹⁾. Se encuentra abierto el estudio fase I en pacientes con Hb S talasemia y talasemia no dependiente de transfusiones (TNDT), NCT0298139 que incluye pacientes pediátricos (> 12 años) y adultos cuyo objetivo primario es evaluar modificaciones de la Hb fetal (porcentaje) en comparación a los valores basales pre tratamiento⁽²⁾.

Terapia génica (TG)

La TG utilizando células madre autólogas podría ofrecer una alternativa terapéutica al trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) teniendo como ventajas vencer la barrera de la histocompatibilidad y, además, la ausencia de efectos adversos propios de los TCPH alogénicos, como la enfermedad injerto Vs, huésped (EICH), infecciones y falla de prendimiento⁽³⁾.

El objetivo de la TG es incrementar los niveles de Hb A y disminuir el requerimiento transfusional⁽⁴⁾.

Metodología. Los progenitores hematopoyéticos

(PH) son aislados para que genes β o γ globina sean integrados al genoma del huésped utilizando un vector lentiviral⁽³⁾. Luego de un régimen acondicionante mieloablativo o de un régimen de intensidad reducida los PH que fueron modificados repueblan el compartimiento hematopoyético⁽³⁾. En conclusión: los 4 pasos involucrados son la movilización de PH CD34+; la corrección ex vivo del gen anormal, la utilización de un régimen acondicionante mieloablativo y, finalmente, la re infusión de CP corregidas genéticamente. La movilización de PH CD34+ se realiza con factores de colonias granulocíticas con/sin plerixafor. Como régimen mieloablativo el *Memorial Sloane Kettering Cancer Center* utiliza busulfán en contraste con el grupo Italiano (GLOBE Study) que utiliza treosulfán +thiotepa⁽⁵⁾. La 1^{era} TG para β talasemia fue publicada en el año 2010 ⁽⁶⁾ utilizando un vector lentiviral que expresa una mutación T87Q en el gen β globina (HPV569) en un paciente con β^E/β^0 . Si bien se obtuvo independencia transfusional, se demostró una potencial hematopoyesis clonal. Los vectores que actualmente se utilizan en los diferentes estudios clínicos son: TNS9.3 (USA-NCT01639690); BB305 (Francia-NCT02151526), Francia- Tailandia, Australia USA (NCT02906202); GLOBE-Italia-(NST02453477)⁽⁷⁾. Hay algunas limitaciones que conspiran contra el éxito de este tipo de terapia, siendo el número de copias del vector (VCN) en las células CD34+ un punto central para el éxito de la TG. La actual generación de vectores virales que se integran las CPH tienen que tener un VCN > 1 / célula para potencialmente corregir la anemia y discontinuar las transfusiones⁽⁸⁾. Actualmente, las mejoras en los procesos de manufacturación han llevado a incrementar los niveles de Hb funcional post TCPH (HBA787Q y VCN)⁽⁹⁾. El sistema de transposones “*Sleeping beauty*” es una alternativa a los vectores lentivirales para ser utilizado en la TG, el cual utiliza la cápside modificada de adenovirus (no hay estudios clínicos en β talasemia)⁽¹⁰⁾.

Resultados de estudios clínicos. Diversos estudios clínicos teniendo como objetivo central la eficacia y la seguridad de la TG están en progreso.

Estudio fase I/II: en TDT/NCT01745120/NORTHSTARHGB 204 y NCT 02151526 utilizan el vector lentiviral (BB305). N: 22 pacientes rango de edad 12-35 años con un seguimiento de 26 meses

(R:15-42) demostraron que 12/13 pacientes con genotipo no β^0/β^0 logran independencia transfusional con un nivel de Hb de 8.2 a 13.7 gr/dl. 3/9 pacientes con genotipo β^0/β^0 se encuentran sin requerimiento transfusional y disminución del 73% del volumen transfusional en los otros pacientes, demostrando buena expresión de Hb funcional transferida por el vector. No se constató patología clonal ni evidencias de replicación viral como tampoco efectos adversos del acondicionante⁽¹¹⁾.

Estudios fase III: se encuentran abiertos 2 estudios para TDT con genotipo no β^0/β^0 (NCT 02906202/NORTHSTAR2/ HGB207)⁽¹²⁾ y genotipo β^0/β^0 (NCT03207009/NORTHSTAR 3/HGB212)⁽¹³⁾. Objetivo primario: evaluar disminución del requerimiento transfusional > del 60%. Datos preliminares del NORTHSTAR3 sugieren mejoras en la manufacturación del vector (> VCN mejor transferencia de Hb A (T879) y mejor nivel de Hb posterior a la infusión). 2/3 pacientes infundidos con más de 6 meses de seguimiento no tienen requerimiento transfusional manteniéndose con Hb > 10 gr/dl.

Es necesario un mayor seguimiento de los pacientes ingresados (n: 10) para demostrar si las mejoras en la manufacturación del vector se relacionan con mejores resultados clínicos en pacientes con genotipo β^0/β^0 ⁽¹⁴⁾.

Estudios clínicos fase I/II (GLOBE: NCT 02453477) utilizando un vector lentiviral de 3^{era} generación se realiza la infusión intra ósea de la PH modificados. Actualmente este estudio está abierto. Tiene 3 cortes de pacientes: corte 1: > de 18 años: 3 pacientes; corte 2: de 8 a 17 años: 3 pacientes y corte 3: de 3 a 7 años: 4 pacientes. Los resultados de los pacientes pediátricos fueron mejores que los pacientes adultos, ya que lograron independencia transfusional, en cambio, los adultos una reducción del requerimiento transfusional⁽¹⁵⁾.

Estudio fase I (NCT01639690) utiliza un vector lentiviral (TNS9.3) y un régimen acondicionante de intensidad reducida. No hay datos disponibles⁽¹⁶⁾.

Conclusiones: en los últimos 15 años la TG ha tenido progresos significativos en relación a la seguridad y eficacia del procedimiento. Inicialmente el número de eventos adversos serios estaban en relación a inserciones genotóxicas de los vectores retrovirales en el genoma. En la actualidad se están reportando excelentes resultados infundiendo PH modificados

por vectores lentivirales inactivados y el número de eventos adversos ha disminuido significativamente. En un futuro próximo, estas TG podrían estar disponibles como nuevas terapéuticas en pacientes con β -Talasemia y otras enfermedades hematopoyéticas hereditarias⁽¹⁷⁾.

Edición genómica (EG)

La tecnología de EG representa una revolución de la ingeniería genética. La edición genómica se basa en la corrección de mutaciones genéticas en el DNA celular eliminando las secuencias específicas patológicas en el genoma.

Metodología: se basa en la rotura de la doble cadena del ADN (*double strand breaks*) en la región específica a editar, la cual puede ser inducida por las nucleasas de dedos de zinc (ZFN), las nucleasas activadoras de transcripción (TALEN) o las revolucionarias nucleasas de secuencias palindrómicas repetidas inversas (CRISP- Cas9).

Una diana potencial para la edición genómica es el factor de transcripción BCL11a, el cual suprime la expresión del gen gamma globina⁽¹⁸⁾. La pérdida de actividad del BCL11a produce un aumento de la expresión de la Hb fetal. Estudios clínicos fase I/II (THALES) en población adultos con TDT ST-400 (NCT03432364) utiliza la tecnología de ZFN (estudio abierto)⁽¹⁹⁾.

Otro estudio clínico utiliza la edición genómica del BCL11a por técnica de CRISPR- Cas9 en adultos con genotipo no β^0/β^0 (NCT03655678)⁽²⁰⁾. El objetivo primario del estudio es evaluar la proporción de pacientes que logra reducir las transfusiones por 6 meses y el objetivo secundario: evaluar la concentración de Hb en el tiempo.

Reducción de síntesis de α globina

El exceso de cadenas α globina en pacientes con β talasemia es el principal mecanismo que lleva a la hemólisis y eritropoyesis ineficaz. La coexpresión de α talasemia disminuye el fenotipo de la enfermedad en pacientes con β talasemia. Un potencial abordaje para silenciar el gen puede incluir la edición genómica del gen α .

In vitro se demostró que un inhibidor de histona con actividad dimetilasa (IOX1) regula negativamente la expresión de las cadenas α globina sin alterar la diferenciación eritroide. Podría ser considerado como una alternativa futura⁽²¹⁾.

Conclusión: la TEG representa ventajas en relación a la TG mediada por vectores. En relación a complejidad y a costos de manufacturación. Sin embargo, la eficacia y bioseguridad de esta tecnología no está definida en la vida real. La manipulación del ADN puede representar un riesgo significativo no necesariamente inferior a los efectos genotóxico del vector viral en el genoma. La eficacia y seguridad de la edición genómica requieren estudios más exhaustivos⁽⁶⁾.

Eritropoyesis ineficaz (EI)

La EI es la llave de los mecanismos fisiopatogénicos de la anemia crónica en la β talasemia. Diferentes terapéuticas dianas en relación a la EI se encuentra actualmente en investigación para el tratamiento de la anemia en la β talasemia. Nuevas terapéuticas están siendo evaluadas en distintos estudios de investigación:

- inhibidor de tirosin-kinasa (JAK2): ruxolitinib;
- Proteínas de fusión de los receptores de activina II A y B: sotatercept (ACE011) y el luspatercept (ACE536)⁽²²⁾.

Inhibidor de tirosin-kinasa (JAK2): la eritropoyesis es regulada por factores extra e intra celulares. El factor de crecimiento en transformación β y JAK2 están relacionados en el control de la eritropoyesis. La unión de la eritropoyetina a su receptor produce la activación del JAK2 quien, a su vez, activa múltiples señales de transducción para estimular la proliferación, diferenciación y supervivencia de la progenie eritroide⁽²³⁾. Se evalúa si su inhibición es una diana potencial para el tratamiento de la eritropoyesis inefectiva en pacientes con β -talasemia.

Ruxolitinib: es un inhibidor del JAK2 aprobado para el tratamiento de pacientes con policitemia vera y síndrome mieloproliferativo por su efectividad en reducir la esplenomegalia. El estudio clínico fase II A (TRUTH) multicéntrico con ruxolitinib en pacientes adultos (n: 30), evaluó la eficacia y seguridad en pacientes con TDT y esplenomegalia (NCT02049450). Fue administrado por vía oral 10 mg 2/veces por día por 30 semanas. El objetivo primario fue evaluar cambios en el ritmo transfusional entre las semanas 6 a 30 comparada a un periodo de 24 semanas previas al comienzo de la droga. El objetivo secundario fue evaluar los cambios en el volumen esplénico y modificaciones en la Hb pre transfusional. El tratamiento produjo disminución

del tamaño esplénico del 26.4% evaluado en la semana 30 y una disminución del requerimiento transfusional del 5.9% sin cambios relevantes en la Hb pre transfusional. Debido a los beneficios limitados del ruxolitinib en pacientes con TDT no se proyecta efectivizar en el futuro un estudio clínico fase III⁽²⁴⁾.

Proteínas de fusión de los receptores de activina II A y B

Estas proteínas recombinantes actúan a través de la superfamilia del factor de crecimiento en transformación β (TGF β) relacionado en la eritropoyesis tardía promoviendo la diferenciación terminal de la eritropoyesis. Por lo tanto, *su mecanismo de acción es diferente a la eritropoyetina que actúa en la etapa precoz de la eritropoyesis.*

Sotatercept (ACE011): es una proteína de fusión del receptor de la activina IIA, consta de un dominio del receptor fusionado al dominio Fc de la IgG 1 humana. Su mecanismo de acción es inhibiendo el TGF β , el factor de diferenciación de crecimiento 11 (GDF-11 y activina B). En pacientes con β talasemia el GDF11 está sobreexpresado. De esta manera su producción aberrante induce expansión eritroide, incremento del estrés oxidativo y arresto de maduración cuyo resultado es la EI⁽²⁵⁻²⁶⁾. El sotatercept actúa sobre la eritropoyesis tardía incrementando glóbulos rojos maduros y disminuyendo la EI. El estudio clínico fase II (NCT01571635) abierto evalúa seguridad y dosis efectiva que incremente el nivel de Hb y la disminución del requerimiento transfusional en pacientes adultos con TDT N: 16 y NTDT (N: 30). Los pacientes fueron tratados con sotatercept a 0.1, 0.3, 0.5, 0.75 y 1 mg/kg para evaluar la efectividad y a 0.5 mg/kg para TDT seguridad relacionada a la dosis administrada. La vía de administración fue subcutánea cada 3 semanas por un período de tratamiento de 22 semanas. La respuesta en los TDT fue definida como reducción mayor o igual del 20% del ritmo transfusional por 24 semana En los NTDT la respuesta fue definida por el incremento de más de 1 gr/dl de Hb por 12 semanas. Resultados: la dosis activa fue > 0.3 mg/kg para NTDT y > 0.5 mg/kg para los TDT. El objetivo para ambos grupos de pacientes fue logrado con altas dosis de sotatercept⁽²⁷⁾. En conclusión: el sotatercept es la 1ª droga desarrollada de esta clase que actúa en la EI ofreciendo una alternativa u opción complementaria para pacientes con β talasemia.

Luspatercept (ACE536): es una nueva proteína

recombinante con un dominio extracelular modificado del receptor de la activina humana tipo II B unido a la región Fc de la IgG 1 humana. Se une con alta afinidad a los ligandos de la superfamilia de los TGF- β , tales como GDF11 y GDF8.

Estudios preclínicos evalúan que el luspatercept inhibe la señal aberrante del Smad2/3 que controla la eritropoyesis tardía⁽²⁸⁾. Al igual que el sotatercept su mecanismo de acción es diferente al de la eritropoyetina, cuya función es estimular la proliferación eritroide en estadios tempranos⁽²⁹⁾.

El análogo murino (RAP-536) corrige las complicaciones de la EI incluyendo la sobrecarga y patología ósea en un modelo animal de β talasemia⁽³⁰⁾. El estudio clínico fase I en voluntarios sanos demostró un aumento del nivel de Hb, dosis dependiente, que persistió tras la suspensión. El estudio clínico fase II multicéntrico en pacientes con TDT y NTDT (NCT01749540) fue extendido a 5 años (NCT02268409). Los pacientes recibieron luspatercept en dosis de 0.2 a 1.25 mg/kg administrado por vía SC cada 3 semanas. El objetivo primario fue evaluar el incremento de Hb + 1.5 gr/dl de la basal en pacientes NDT y disminución del requerimiento transfusional en TDT. El 58% de los pacientes con NTDT y el 81% de los TDT lograron el objetivo primario. Los efectos adversos fueron grado 1 y 2⁽³¹⁾.

A partir de estos resultados, el estudio clínico fase III (BELIEVE) doble ciego randomizado vs. placebo evalúa la eficacia y seguridad del luspatercept en pacientes adultos TDT (NCT02604433) a 1 mg/kg vs. placebo por vía SC cuyo objetivo primario es la disminución del requerimiento transfusional del 33% del basal tras 12 semanas de tratamiento consecutivas. Datos preliminares del BELIEVE demuestran que el 21.4% de los pacientes lograron el objetivo primario vs. 4.5% del grupo placebo⁽³²⁾.

Debemos considerar que la confirmación de dichos resultados representa una nueva opción terapéutica la cual incluye optimizar la transfusión y tratamiento quelante. Una nueva droga que mejora la severidad de la enfermedad⁽³¹⁾.

Terapéuticas dirigidas a mejorar la disregulación del Fe

Manipulación de los niveles de hepcidina

La hepcidina es una hormona que bloque la absorción, redistribución y depósito de Fe a través de la regulación negativa de la ferroportina. Es producida

en el hígado en respuesta a la inflamación y depósitos de Fe aumentado. En los pacientes con β -talasemia es inhibida por la eritroferona producida en los precursores eritroides. La EI determina niveles de hepcidina disminuidos con el consiguiente aumento de la absorción del Fe. En un modelo animal con β talasemia, la sobreexpresión de hepcidina mejora la eritropoyesis ineficaz, incrementa la hemoglobina, revierte la esplenomegalia, limitando la sobrecarga⁽³³⁾.

¿Es factible prevenir la sobrecarga primaria de hierro en pacientes β talasémicos y reducir la carga de hierro manipulando los niveles circulantes de hepcidina? Las primeras evaluaciones se realizaron con minihepcidinas (PR73) en un modelo animal. Las minihepcidinas son péptidos cortos que mimetizan la actividad de la hepcidina endógena e inducen la internalización y degradación de la ferroportina in vitro. La administración mejora la eritropoyesis ineficaz, la anemia y la sobrecarga de hierro⁽³⁵⁾.

A partir de estas observaciones en el modelo animal, se han desarrollado agonistas de hepcidina, los cuales se evalúan en estudios preclínicos y fase I

Agonistas de hepcidina

Son una nueva clase de drogas que regulan los niveles de hierro, limitando su absorción, los cuales pueden mejorar el tratamiento de enfermedades en las cuales la disregulación de la homeostasis del hierro contribuye a la enfermedad.

Clase 1: Hepcidina miméticos

Hepcidina humana sintética: LJPC-401: se evaluó un estudio fase I (randomizado, doble ciego, dos brazos, placebo vs dosis única-múltiples dosis, NCT

03381833) para evaluar el efecto del LJPC-401 sobre los parámetros de hierro. Se observó disminución de los niveles de hierro comparado con los basales, dependiente de la dosis. No se observaron efectos adversos⁽³⁶⁾.

Clase 2: estimulantes de la producción de hepcidina

TMPRSS6, proteasa serina 6 transmembrana: la proteasa serina 6 transmembrana disminuye la producción de hepcidina. La producción endógena de hepcidina puede ser estimulada reduciendo la expresión del TMPRSS6. Datos en el modelo animal evalúan que la delección del gen TMPRSS6 mejora la anemia, reduce la eritropoyesis ineficaz, la esplenomegalia y sobrecarga⁽³⁷⁾.

a) terapia con oligonucleótidos sin sentido de la proteasa serina 6 transmembrana (IONIS-TMPRSS6-L_{RX}) reducen los niveles de hierro en voluntarios sanos en un estudio Fase I (placebo vs TMPRSS6-IONIS)⁽³⁸⁾.

b) RNA de interferencia inhibe la expresión del TMPRSS6 y disminuye la sobrecarga de hierro en un modelo animal con talasemia intermedia esplenectomizados⁽³⁹⁾.

Clase 3: inhibidores de la ferroportina: la ferroportina juega un rol importante en la homeostasis del Fe. Exporta el mismo desde el enterocito a la circulación. El HIF2 α (factor inducible de hipoxia) es el regulador de la expresión de ferroportina en respuesta a los requerimientos de Fe. En modelos animales con β -talasemia el HIF2 α se activa precozmente, produciendo una acumulación de Fe. La eliminación de la señal de transducción del HIF2 α corrige la sobrecarga.

Estudio clínico con ferroportina: el VIT2763 es el

Clasificación⁽³⁵⁾

	Droga	Diana	Estudio clínico
Clase 1: hepcidina miméticos	MHS (PR73, PR13, M009, M012)	Ferroportina	preclínico
	LJPC 401	Ferroportina	Fase I
	PTG 300	Ferroportina	Fase II
Clase 2: estimulantes de la producción de hepcidina	TMPRSS6- A50	TMPRSS6	Fase I
	TMPRSS6 iRNA	TMPRSS6	preclínico
Clase 3: inhibidores de la ferroportina	VIT-2763	Ferroportina	Fase I

1^{er} inhibidor oral de la ferroportina que produce disminución de los niveles de hierro en estudios pre clínicos.

El VIT2763 se une a la ferroportina bloqueándola y evitando la liberación del Fe a la circulación. El estudio clínico fase I doble ciego, randomizado vs. placebo evalúa la eficacia, farmacocinética y farmacodinamia de dosis única vs. múltiples dosis en voluntarios normales. Se constata una disminución de los parámetros de Fe y aumento de la hepcidina dosis dependiente. Los resultados del estudio avalan la iniciación del VIT2763 en pacientes con β -talasemia y sobrecarga de Fe⁽⁴⁰⁾.

Apotransferrina y hepcidina: la síntesis de hepcidina puede ser estimulada por la administración exógena de apotransferrina. La transferrina produce regulación negativa del receptor de transferrina (TFR1) incrementando los precursores eritroides y mejorando la diferenciación y maduración eritroide. Se efectuará un estudio clínico en 12 pacientes con talasemia intermedia por 16 semanas. Recibirán apotransferrina cada 2 semanas para evaluar el impacto en la homeostasis del Fe. El objetivo prima-

rio es demostrar que la apotransferrina disminuye la hemólisis, la sobrecarga de Fe y hematopoyesis extramedular⁽⁴¹⁾.

Conclusión: los pacientes con TNDT tendrán más beneficios con terapéuticas que actúen sobre la expresión de la hepcidina que los pacientes con TDT ya que, la sobrecarga de Fe transfusional no es mediada por los niveles disminuidos de hepcidina. Estudios clínicos futuros podrán ayudar a determinar su eficacia en tratamientos concomitantes, secuenciales o alternantes a la terapéutica quelante.

Una nueva era para el tratamiento de pacientes con β talasemia ha comenzado dado el conocimiento de los mecanismos fisiopatogénicos que han facilitado el desarrollo de nuevas terapéuticas.

Investigar nuevas técnicas de modificación genética, drogas que mejoren la EI y regulación del Fe o combinación de diferentes terapéuticas pueden ser consideradas en el futuro.

Es esperable que estos nuevos abordajes puedan reducir la morbilidad y mejorar la sobrevida de pacientes con β talasemia.

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

Bibliografía

1. Zhang Y, Paikari A, Sumazin P y col. Metformin induces FOXO3-dependent fetal hemoglobin production in human primary erythroid cells. *Blood*. 2018; 132(3):321-33.
2. NCT02981329: fetal hemoglobin induction treatment metformin (FITMet). 201<https://clinicaltrials.gov/NCT02981329>.
3. Goodman MA, Malik P. The potential of gene therapy approaches for the treatment of hemoglobinopathies: achievements and challenges. *Ther Adv Hematol*. 2016;7:302-15.
4. Thompson AA, Kwiatkowski J, Rasko J, Hongeng S y col. Lentiglobin gene therapy for transfusion-dependent β -thalassemia: update from the Northstar HGB-204 Phase 1/2 clinical study. *Blood*. 2016; 128: 1175.
5. Marktel S, Cicalese MP, Giglio F y col. Gene therapy for beta thalassemia: preliminary results from the phase I/II Tiget- Bthal trial of autologous hematopoietic stem cells genetically modified with GLOBE lentiviral vector. *Blood*. 2017; 130 (Suppl1):355.
6. Cavazzana-Calvo M, Payen E, Negre O et al. Transfusion independence and HMGA2 activation after gene therapy of human b-thalassaemia. *Nature*. 2010; 467(7313):318-22.
7. Cavazzana N, Mavilio F. Gene Therapy for Hemoglobinopathies *Human Gene Therapy*. 2018;29(10):1106-1113.
8. Ghiaccio V, Chappell M, Rivela S y col. Gene Therapy For Beta-Hemoglobinopathies: Milestone, New Therapies and Challenges. *Molecular Diagnosis and Therapy*, 2019. Apr: 23 (2) 173-186,
9. Porter J. Beyond Transfusion therapy: New Therapies in Thalassemia including, drugs, alternate donor transplant and gene therapy. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2018. Nov 30 (1) 361-370.
10. Li C, Psatha N, Wang H y col. Integrating HDA d5/35 ++ Vectors As a new platform For HSC Gene Therapy of hemoglobinopathies. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2018; 9: 142-152.
11. Thompson AA, Walters MC, Kwiatkowski J et al. Gene therapy in patients with transfusion-dependent b-thalassemia. *N Engl J Med*. 2018;378 (16):1479-93.
12. NCT02906202:a study evaluating the efficacy and safety of the LentiGlobin BB305 drug product in sub-

- jects with transfusion-dependent b-thalassemia, who do not have a b0/b0 genotype.2018 <https://clinicaltrials.gov/NCT02906202>.
13. NCT03207009: a study evaluating the efficacy and safety of the LentiGlobin BB305 drug product in subjects with transfusion-dependent b-thalassemia, who have a b0/b0 genotype.2018.<https://clinicaltrials.gov/NCT03207009>.
 14. Locatelli F, Walters MC, Kwiatkowski JL et al. Lenti-globin gene therapy for patients with transfusion-dependent b-thalassemia (TDT): results from the phase 3 Northstar-2 and Northstar-3 Studies. *Blood*. 2018; 132: 1025a.
 15. NCT02453477: gene therapy for transfusion dependent beta-thalassemia (TIGET- BTHAL). 2018. <https://clinicaltrials.gov/NCT02453477>.
 16. NCT01639690: b-thalassemia major with autologous CD341hematopoietic progenitor cells transduced with TNS9.3.55 a Lentiviral vector encoding the normal human b-globin gene. 2018 <https://clinicaltrials.gov/ct2/NCT01639690>.
 17. P. Bueren J, Quintana Bustamante O, Almarza E y Col. Advances in The gene Therapy of monogenic blood disease. *Clin Genet*. 2019. Doi: 10.1111/cge13593.
 18. Bauer DE, Kamran SC, Lessard S et al. An erythroid enhancer of BCL11A subject to genetic variation determines fetal hemoglobin level. *Science*. 2013; 342(6155):253-7.
 19. NCT03432364: a study to assess the safety, tolerability, and efficacy of ST-400 for treatment of transfusion-dependent beta-thalassemia (TDT). 2018. <https://clinicaltrials.gov/NCT03432364>.
 20. NCT03655678: a safety and efficacy study evaluating CTX001 in subjects with transfusion-dependent b-thalassemia. 2018 <https://clinicaltrials.gov/ct2/NCT03655678>.
 21. Mettanonsonda S, Fisher Ch, Sloan J y col. Selective silencing of A. Globin by Histone demethylase inhibitor IxI. *Hematologica*. 2017, March 102, e 80-84.
 22. Capellini MD, Porter J, VipraKasit V, Taher A. A paradigm Shift on Beta Thalassemia treatment. How Will We manage this old disease with new therapies?. *Blood Reviews*. 32 (2018) 300- 311.
 23. Melchiori L, Gardenghi S, Rivella S. Beta-thalassemia: hijacking ineffective erythropoiesis and iron overload. *Adv Hematol*. 2010; 2010: 938640.
 24. Taher AT, Karakas Z, Cassinerio E, Siritanaratkul N y colaboradores. Efficacy and safety of ruxolitinib in regularly transfused patients with thalassemia: results from a phase 2a study. *Blood*. 2018; 131: 263-5.
 25. Attie K M, Allison MJ, McClure T, Boyd IE y col. A phase1 study of ACE-536, a regulator of erythroid differentiation, in healthy volunteers. *Am J Hematol*. 2014; 89: 766-70.
 26. Suragani RN, Cadena S M, Cawley S M, Sako D y colaboradores. Transforming growth factor-beta superfamily ligand trap ACE-536 corrects anemia by promoting late-stage erythropoiesis. *Nat Med*. 2014; 20: 408-14.
 27. Cappellini MD, Porter J, Origa R y col. Sotatercept, a novel transforming growth factor beta ligand trap, improves anemia in beta thalassemia: a phase II, open label dose finding study. *Hematologica*. 2019 vol: 104 (3) 477-484.
 28. Martinez P, Bhasin M, Li R, Pearsall S, Kumar R y colaboradores. . RAP-536 (murine analog of ACE-536/luspatercept) inhibits smad2/3 signaling and promotes erythroid differentiation by restoring GATA-1 function in a murine model of β -thalassemia (S136). *Haematologica*. 2016; 101: 18-9.
 29. Carrancio S, Markovics J, Wong P, Leisten J y colaboradores. An activin receptor IIA ligand trap promotes erythropoiesis resulting in a rapid induction of red blood cells and haemoglobin. *Br J Haematol*. 2014; 165: 870-82.
 30. Suragani RN, Cawley SM, Li R, Wallner S y colaboradores. Modified activin receptor IIB ligand trap mitigates ineffective erythropoiesis and disease complications in murine beta-thalassemia. *Blood*. 2014; 123: 3864-72.
 31. Piga A, Perrotta S, Gamberini R y col. Luspatercept improves Hemoglobin levels and blood transfusion requirement in a study of patients with beta thalassemia. *Blood*. 2019;133(12):1279-1289.
 32. Cappellini MD, Viprakasit V, Taher A et al. The believe trial: results of a phase 3, randomized, double-blind, placebo-controlled study of luspatercept in adult beta-thalassemia patients who require regular red blood cell (RBC) transfusions. *Blood*. 2018; 132: 163a.
 33. Gardenghi S, Ramos P, Marongiu MF, Melchiori L y colaboradores. Heparin as a therapeutic tool to limit iron overload and improve anemia in beta-thalassemic mice. *J Clin Invest*. 2010; 120: 4466-77.
 34. Casu C, Oikonomidou PR, Chen H, Nandi V y colaboradores. Mini hepcidin peptides as disease modifiers in mice affected by beta-thalassemia and polycythe-

- mia vera. Blood. 2016; 128: 265-76.
35. Casu C, Nemeth E, Rivella S. Hepcidina agonist as Therapeutic tools. Blood. 2018. 131: 1790-1794.
 36. Porter J, Kowdley K, Taher A y col. Effect of LJPC- 401 (Synthetic human hepcidin) on iron parameter in healthy adult. Blood. 2018, 132:2003-36.
 37. Nai A, Pagani A, Mandelli G, Lidonnici MR y colaboradores. Deletion of TMPRSS6 attenuates the phenotype in a mouse model of beta-thalassemia. Blood. 2012; 119: 5021-9.
 38. Transmembrane protease serine 6 (TMPRSS6) antisense oligonucleotide (ionis-TMPRSS6. Lrx. Reduces plasma iron levels of healthy volunteers in a phase I clinical Study. Blood. 2008. 132:3634.
 39. Schmid P, Liu K, Visner G y col. RNAi mediated reduction of hepatic TMPRSS6 diminute anemia and secondary iron overload in a splenectomized mouse model of beta thalassemia intermedia. Am J Hematol. 2018. Junio 93 (6) 745-750.
 40. Vifor PHARMA ferroportin inhibitor enter phase 1 clinical trial www.viforpharma.com/en-media/press-releases.
 41. Thalassaemia international federation. Clinical trials.



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.

Beta-talasemia severa y embarazo

Severe beta-thalassemia and pregnancy

Chiappe G.

gustavochiappe@gmail.com



TALASEMIA INTERMEDIA VS TALASEMIA MAYOR

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 68-73
Octubre 2019

Palabras claves: talasemia mayor,
talasemia intermedia.

Keywords: thalassemia major,
beta thalassemia intermedia.

1. Introducción

Tener un hijo, más allá de plantar un árbol y escribir un libro, es la meta sin duda más importante en la vida de un ser humano. Décadas atrás talasemia mayor y embarazo eran condiciones incompatibles entre sí: los pacientes con talasemia mayor rara vez superaban la segunda o tercera década de vida, y su condición clínica hacía impensable cualquier posibilidad de descendencia. Con los tratamientos actuales (régimen de transfusión, quelación con drogas orales y trasplante de progenitores hematopoyéticos) la situación ha cambiado drásticamente y muchos pacientes con talasemia mayor aspiran a tener hijos.

En el varón talasémico el problema se centra en la fertilidad, pero en la mujer talasémica se agregan los riesgos inherentes al embarazo. Hoy en día en

una paciente con talasemia mayor en buenas condiciones basales los riesgos no difieren mucho de los de una mujer no talasémica en lo referente a abortos y malformaciones. Sí, en cambio, se duplica el riesgo de retraso de crecimiento o de prematuridad, especialmente en caso de embarazos múltiples (algo frecuente post fertilización in vitro). Por el contrario, un reporte señala que, en embarazos únicos, el retraso de crecimiento intrauterino ocurre en un 8.9% de madres talasémicas vs. en un 8% de madres no talasémicas.

En la medida en que el avance de la ciencia permite en los pacientes talasémicos un aumento de la posibilidad y anhelo de tener descendencia, se va haciendo más evidente la alta incidencia de infertilidad y subfertilidad (40-90%).

Los pacientes con talasemia mayor (transfusión

dependiente) en buen estado general (bien transfundidos y bien quelados) pueden tener embarazos espontáneos, pero lo más frecuente es que requieran tratamiento por infertilidad como consecuencia de la sobrecarga de hierro transfusional, con daño del eje hipotálamo-hipofisario e hipogonadismo hipogonadotrófico consecuente. Las gónadas suelen estar preservadas, por lo que es factible su recuperación hormonal.

Los pacientes con talasemia intermedia (no transfusión dependiente) suelen tener el eje hipotálamo-hipofisario conservado, pero, de presentar infertilidad, deben ser manejados de igual manera que los pacientes con talasemia mayor, salvo en algunos temas puntuales, como ser régimen transfusional y profilaxis antitrombótica.

Como ex-talasémico, el paciente trasplantado queda fuera del foco de este resumen.

Iremos repasando sucesivamente:

- evaluación, orientación médica y preparación para el embarazo,
- inducción de la gametogénesis y
- conducta durante el embarazo, parto y postparto.

2. Evaluación, orientación médica y preparación para el embarazo

El primer paso es la actualización completa del estado físico y funcional del propósito a fin de a) orientar la conducta reproductiva a seguir, basada en su condición actual y en los riesgos que acepta asumir, y b) corregir con tiempo las alteraciones severas para que llegue al embarazo en las mejores condiciones posibles. El manejo de estos pacientes debe ser interdisciplinario: hematólogo, especialista en medicina reproductiva, cardiólogo, obstetra, enfermería especializada, psicólogo, etc.

2.1. Evaluación pre embarazo

La actualización del estado actual del paciente incluye la evaluación de diferentes órganos y sistemas.

- Hematológico. Evaluar régimen transfusional. Si no lo tiene hecho, fenotipificar grupos sanguíneos de la manera más amplia posible. Descartar presencia de auto y aloanticuerpos en la propósis. Evaluar estado hematológico de la pareja: descartar fehacientemente hemoglobinopatías estructurales, talasémicas o de sobreexpresión (triple alfa) en el cónyuge.

- Sobrecarga de hierro. Evaluar con perfil de hierro y resonancia nuclear magnética de abdomen, corazón y, de ser posible, de hipófisis. En la primera década de vida ya se detecta depósito de hierro en la hipófisis y en la segunda disminución de su tamaño, datos que correlacionan con el grado de hipogonadismo.

Recordar que hepatocitos, células beta pancreáticas y miocardiocitos expresan la proteína ZIP14 en su superficie, con capacidad para captar el hierro libre circulante no unido a transferrina. La hipófisis anterior, responsable de la secreción de gonadotropinas, tiene una alta expresión del receptor de transferrina, especialmente durante el aumento de actividad puberal.

- Cardíaco. Uno de los mayores riesgos en pacientes con talasemia mayor y embarazo es el cardíaco, habida cuenta de que durante el embarazo el gasto cardíaco se incrementa en un 25-30%. Monitorear con electrocardiograma (de reposo y post esfuerzo), ecocardiografía (con fracción de eyección de ventrículo izquierdo > 65% y fracción de acortamiento > 30%), Holter de 24 hs y evaluación por médico cardiólogo. Es conveniente disponer de una medición reciente del contenido cardíaco de hierro por resonancia nuclear magnética. El hallazgo de disfunción ventricular izquierda, arritmias significativas o $T2^* < 10$ mseg desaconsejan el embarazo.

- Hepático. Evaluar hepatograma, serología viral, ecografía y resonancia nuclear magnética con medición de la concentración hepática de hierro (LIC). Eventualmente punción biopsia hepática para evaluar presencia de fibrosis o cirrosis. Si la concentración hepática de hierro es mayor de 7 mg Fe/gramo de tejido seco, incrementar la quelación y postergar otras decisiones hasta que ésta se corrija.

- Óseo. Radiografía simple de columna y densitometría ósea de columna y cadera. De haber osteopenia u osteoporosis indicar el tratamiento correspondiente.

- Infecciones virales. Tener en cuenta que en estas pacientes el riesgo infeccioso está aumentado por la sobrecarga de hierro, el aumento de los estrógenos y la eventual esplenectomía. Evaluar serología para HIV, HCV, HBV y rubeola. De corresponder, vacunar contra la rubeola antes del embarazo. De ser positiva la serología para HIV, iniciar el tratamiento antiviral más adecuado.

- Tiroides y páncreas. Evaluar función tiroidea (hormonas y autoanticuerpos) y estado metabólico (diabetes). En pacientes transfundidas no es válida la medición de hemoglobina glicosilada (HbA1c), por lo que debe recurrirse al dosaje de fructosamina, cuya concentración debe estar por debajo de los 3 mmol/L (rango de referencia 1.8-2.8 mmol/L) desde por lo menos 3 meses antes del embarazo. De detectarse anormalidades, deben corregirse adecuadamente, ya que inciden negativamente en la fertilidad.

- Aparato genital. Ecografía ginecológica e histerosalpingografía para evaluar órganos sexuales.

Los dosajes de hormona folículo estimulante, hormona luteinizante y estradiol definen hipogonadismo pero predicen pobremente la capacidad reproductiva.

Los ovarios de las mujeres con talasemia mayor envejecen prematuramente, con disminución de la reserva ovárica, por lo que resulta difícil determinar hasta qué edad puede ser efectiva una estimulación hormonal. Corresponde evaluar la reserva ovárica con ecografía (número de folículos) y con dosaje de la hormona antimülleriana que, al ser segregada por los folículos (células de la granulosa), refleja la cantidad de óvulos viables presentes. Dado que tiene poca variabilidad inducida por las gonadotropinas, tanto inter como intraciclos, es de gran utilidad en pacientes talasémicos.

Dado que el riesgo de insuficiencia ovárica se incrementa progresivamente con los años, corresponde plantear precozmente la criopreservación de ovocitos o tejido ovárico. Igual criterio es válido para la criopreservación de esperma. La indicación también es válida para pacientes en plan de trasplante de progenitores hematopoyéticos, a fin de evitar el daño por drogas hematotóxicas.

2.2. Orientación médica

La orientación médica se debe encaminar hacia una decisión informada: la decisión la toma la pareja en base a sus deseos, convicciones, etc., a partir de la información completa y precisa aportada por el profesional (o equipo profesional) participante. Los riesgos de complicaciones serán expuestos en su justa medida, sin dejar de recordar la expectativa de vida relativamente corta de los pacientes talasémicos (futuros padres), aun en tratamiento óptimo.

Si el propósito es mujer con daño orgánico severo, la única alternativa es la adopción.

De no haber daño orgánico severo y frente a una situación, no remota, de que el cónyuge también sea portador de una talasemia mayor, el consejo se orientará hacia la adopción o a la búsqueda de un embarazo con uso de esperma de banco (dado que la donación de óvulos es técnicamente más complicada). Si el cónyuge es heterocigota, se planteará una fertilización *in vitro*, con selección preimplante del huevo heterocigota. También es preferible recurrir a una fertilización *in vitro* en caso de patología de útero o trompas de Falopio

2.3. Preparación para el embarazo

La consulta por búsqueda de embarazo es una buena oportunidad para reevaluar y ajustar los tratamientos de base:

- ácido fólico: dada la alta incidencia de defectos de cierre del tubo neural, aumentar la dosis profiláctica de 1 a 5 mg por día y mantener esta dosis durante el embarazo para prevenir eventual folatopenia.
- quelantes de hierro: suspender quelantes orales (deferasirox y deferiprona) antes de iniciar inducción de la gametogénesis y reemplazar por deferoxamina. Pacientes muy bien queladas y con función cardíaca normal pueden llegar a prescindir de la quelación durante el embarazo.
- tratamiento de reemplazo hormonal: suspenderlo 4-6 semanas antes de la inducción de la gametogénesis.
- bifosfonatos: suspender desde 6 meses antes del embarazo (habida cuenta de su vida media prolongada) hasta después de terminada la lactancia materna.
- calcio y vitamina D: asegurar su suplementación a todo lo largo del embarazo y la lactancia.
- metformina: se puede continuar durante el embarazo, pero tal vez se deba agregar insulina.
- inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (enalapril, captopril, etc.): suspender durante el embarazo.
- interferon, ribavirina, hidroxiurea: suspender por lo menos 6 meses antes del embarazo.
- hormona tiroidea: evaluar el incremento de su dosis a fin de asegurar el eutiroidismo en pacientes hipotiroideas. En casos raros de hipertiroidismo, reemplazar carbimazol por propiltiouracilo.

3. Inducción de la gametogénesis

Pese a que la mayoría de las pacientes talasémicas no tienen gonadotropinas pulsátiles, la efectividad de la inducción de la ovulación es de un 80-90% en pacientes con sobrecarga de hierro moderada-severa, mientras que la de la espermatogénesis es sólo de un 10-15%.

3.1. Inducción de la ovulación

La inducción de la ovulación está indicada en caso de amenorrea primaria o secundaria, así como en mujeres con menstruación normal pero que no quedan embarazadas.

Si el ciclo hormonal está conservado (estadios iniciales, poco frecuente), la ovulación puede ser inducida con infusión pulsátil de la hormona liberadora de gonadotropinas, pero lo común es que se deba recurrir al tratamiento con gonadotropinas: hormona folículo estimulante (FSH), hormona luteinizante (LH) y citrato de clomifeno para estimular el desarrollo folicular, y LH y gonadotropina coriónica humana (hCG) para completar el desarrollo folicular, todo en dosis y frecuencia reguladas según la respuesta de la paciente.

Cuando al menos dos folículos alcanzan un tamaño de 17 mm, se administra gonadotropina coriónica humana para inducir la ovulación, que ocurre 36 horas después, momento adecuado para la fertilización natural o para la recolección del óvulo para fertilización *in vitro*.

La quelación de hierro puede continuarse durante la inducción ovárica.

La inducción de la ovulación conlleva una serie de riesgos, por lo que debe ser manejada por un equipo multidisciplinario entrenado en el tema, con control de la inducción del ciclo con ecografías vaginales repetidas:

- síndrome de sobrestimulación ovárica (en 1-2% de las pacientes), con aumento de permeabilidad de los vasos ováricos, drenaje de fluidos hacia cavidad abdominal, dolor abdominal, vómitos, deshidratación, hasta shock hipovolémico y fallo renal y pulmonar.
 - embarazos múltiples, embarazo ectópico, aborto.
- Si después de 6 ciclos no hubo fertilización natural, se debe reevaluar la estrategia utilizada o plantear tecnologías de reproducción asistida (TRA): fertilización *in vitro* con manipulación de huevos y embriones, o uso de drogas fertilizantes.

3.2. Inducción de la espermatogénesis

En etapa puberal se debe evaluar la testosterona basal y el semen. Si la espermatogénesis es satisfactoria, se debe criopreservar semen para su eventual uso posterior, aunque parece haber mayor riesgo de mutagénesis, especialmente cuando se lo utiliza para inyección intracitoplasmática de espermatozoides, técnica que, si bien mejora la tasa de fertilización aun en casos de oligo o astenospermia, puentea los mecanismos naturales de selección de gametos. Si la instalación del hipogonadismo hipogonadotrófico fue prepuberal, lo más probable es que los testículos sean pequeños (volumen < 5 cm³) y que el paciente requiera terapia de inducción.

El tratamiento de inducción se inicia con gonadotropina coriónica humana 1.000-2.000 UI IM por semana, con control clínico y de niveles de testosterona cada 2-3 meses y ajuste de dosis según evolución. Si al cabo de 8-12 meses, y pese a una virilización completa, no se logró espermatogénesis satisfactoria, se debe complementar con gonadotropina menopáusica humana (hMG, 75 UI) u hormona folículo estimulante (FSH) recombinante 3 veces por semana por otros 6 meses. Si al cabo de dos años no se logró una espermatogénesis satisfactoria, no tiene sentido continuar y se debe recurrir a banco de espermatozoides. Si, por el contrario, se logró un embarazo, la espermatogénesis puede ser mantenida con la sola administración de gonadotropina coriónica humana.

4. Conducta durante el embarazo, parto y posparto

4.1. Conducta durante el embarazo

4.1.1. Controles

Evaluación cardíaca, hepática y tiroidea cada 3 meses.

Dado el alto riesgo de diabetes gestacional, pesquisarla a la semana 16 y, si es normal, a la semana 28. Control ecográfico del crecimiento fetal con ecografía a partir de la semana 24-26.

4.1.2. Medicación

- Tromboprofilaxis con heparina de bajo peso molecular (+/- aspirina) a partir del segundo trimestre en pacientes con talasemia no transfusión dependiente, esplenectomizadas (en ambos casos hay mayor cantidad de eritrocitos talasémicos circulantes que van a interaccionar con endotelio y plaquetas) o con abortos recurrentes previos.

- **Ácido fólico.** Suplementación a todo lo largo del embarazo (5, excepcionalmente 10 mg/día).
- **Transfusiones.** Aumentar frecuencia transfusional para mantener una hemoglobina pretransfusional > 10 g/dL. Es preferible aumentar más la frecuencia de las transfusiones que el volumen transfundido para prevenir mayor estrés metabólico y mejorar la oxigenación fetal. Las pacientes con talasemia intermedia suelen pasar a ser transfusión dependientes durante el embarazo, con alto riesgo de aloinmunización, por lo que es necesario recurrir a un panel ampliado para la selección de la unidad de glóbulos rojos a transfundir. La fenotipificación de Rh y Kell disminuye la aloinmunización en un 53%.
- **Quelación.** En embarazos animales se han informado alteraciones esqueléticas por deferoxamina y renales por deferasirox, pero no hay reportes de teratogenicidad por deferoxamina en embarazos humanos. Si el deterioro de la función cardíaca lo requiere, puede indicarse quelación con deferoxamina (que por su alto peso molecular no atraviesa la placenta) en tercer trimestre y, eventualmente, en el segundo. Sopesar riesgo/beneficio. Evitar los quelantes orales.
- **Calcio y vitamina D** (25-40 mg/día = 1.000-16.000 UI). Contribuye a minimizar el riesgo de diabetes gestacional.

4.2. Conducta durante el parto

Si el embarazo evoluciona normalmente, es posible que el trabajo de parto se inicie espontáneamente sin necesidad de ser inducido. De igual manera es de esperar que el parto se realice por vía vaginal, aunque muchos embarazos terminan en cesárea, básicamente por la alta frecuencia de desproporción cefalopelviana por la baja estatura y deformaciones esqueléticas maternas frente a un desarrollo fetal normal. También está indicada la cesárea en caso en infección por HIV para prevenir la transmisión vertical. En general un 80 % de los embarazos de mujeres talasémicas termina en cesárea, pero en series de pacientes bien transfundidas y queladas esta frecuencia disminuye al 19%.

La anestesia de elección es la peridural, recordando que las pacientes suelen tener anomalías vertebrales, con disminución en altura de sus cuerpos y el consiguiente desplazamiento caudal del cono

terminal de la médula espinal. Dada la posibilidad de deformaciones maxilofaciales, secundarias a la expansión de la médula ósea, que pueden complicar la intubación, tratar de evitar la anestesia general.

Es importante que el trabajo de parto no se dilate excesivamente, con mayor riesgo de acidosis. De haber sobrecarga cardíaca de hierro o disfunción durante el trabajo de parto, con alto riesgo de insuficiencia cardíaca o de arritmias, corresponde indicar deferoxamina en goteo continuo (2 g en 24 horas).

4.3. Conducta en el postparto

En las pacientes de riesgo trombótico alto mantener tromboprofilaxis durante una semana después de parto vaginal y 6 semanas después de cesárea.

Profilaxis antibiótica postparto, especialmente en pacientes esplenectomizadas, dado el alto riesgo de infección.

Promover la lactancia materna, salvo si hay riesgo de transmisión vertical de virosis (HIV, HCV, HBV). Reiniciar precozmente quelación sólo con deferoxamina, incluso durante la lactancia, ya que su concentración en la leche es baja y no es absorbible por vía intestinal.

Continuar suplementación con calcio y vitamina D, pero posponer bifosfonatos hasta después de finalizada la lactancia.

En lo referente a anticoncepción, se recomiendan los métodos de barrera (preservativos o diafragma, no dispositivo intrauterino por el riesgo de infección) o anticonceptivos con progesterona exclusivamente (sin estrógenos por el riesgo de tromboembolismo). Los varones con hipogonadismo hipogonadotrófico son naturalmente infértiles, por lo que no se requiere anticoncepción.

5. Conclusiones

Un régimen transfusional y quelante óptimo y sostenido a todo lo largo de la vida es la mejor garantía de que un paciente con talasemia mayor pueda acceder a tener un hijo propio. Es necesario un manejo preciso y multidisciplinario para coronar con éxito este objetivo. Pero no perdamos de perspectiva que el éxito obstétrico que podamos lograr hoy es fruto de un error preventivo una generación atrás, en ocasión del embarazo de la abuela del recién nacido: el nacimiento de un chico con talasemia mayor es un fracaso de la medicina preventiva.

Conflictos de interés: El autor declara no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

1. Leung TY, Lao TT. Thalassaemia in pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2012 Feb;26(1):37-51. PMID: 22079388.
2. Taher A, Vichinsky E, Musallam K, Cappellini MD, Viprakasit V; Weatherall D, editor. Guidelines for the Management of Non Transfusion Dependent Thalassaemia (NTDT). *Thalassaemia International Federation.* 2013. PMID: 24672826.
3. Cappellini MD, Cohen A, Porter J, Taher A, Viprakasit V, editors. Guidelines for the Management of Transfusion Dependent Thalassaemia (TDT) 3rd edition. *Thalassaemia International Federation.* 2014. PMID: 25610943.
4. Carlberg KT, Singer ST, Vichinsky EP. Fertility and Pregnancy in Women with Transfusion-Dependent Thalassemia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2018 Apr;32(2):297-315. PMID: 29458733.



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.

Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en pacientes con β talasemia mayor

Hematopoietic Stem Cell Transplantation in β Talasemia Mayor patients

Drelichman G.

Jefe de Hematología y de la Unidad de TCPH del Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires, Argentina.

drgdrelichman@yahoo.com.ar



**TALASEMIA
INTERMEDIA
VS TALASEMIA
MAYOR**

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 74-81
Octubre 2019

Palabras claves: B talasemia mayor, trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, único tratamiento potencialmente curativo.

Keywords: B thalassemia major, haematopoietic stem cell transplant, is the only treatment with the potential to cure.

Introducción

La β -talasemia mayor (β -TM) y la enfermedad de células falciformes son las dos hemoglobinopatías hereditarias más diseminadas del mundo. A pesar de la prevención y los consejos genéticos, más de 50.000 niños nacen en el mundo cada año con β -TM. La sobrevida para las personas afectadas ha mejorado en los últimos años debido a los avances en el tratamiento y en el manejo de las complicaciones. Los regímenes transfusionales y las terapias quelantes del hierro (Fe) han sido los pilares del tratamiento durante los últimos 50 años.

En la actualidad, más de 120.000 pacientes de todo el mundo están con TQ^(1,2). Desde la aprobación del deferasirox dispersable por la FDA en el 2005 y el deferasirox recubierto en el 2015 como terapias quelantes orales, se logró un impacto significativo en la sobrevida de los pacientes al controlar eficazmente al hierro libre (NTBI), principal mediador del daño tisular que produce la sobrecarga de Fe^(1,2). Además, la aparición de nuevos métodos no invasivos

de diagnóstico, como la medición del Fe hepático y cardíaco T2* por resonancia nuclear magnética, ayudó a disminuir considerablemente las muertes por sobrecarga de Fe cardíaca, siendo en la actualidad la sobrecarga hepática la diana para controlar eficazmente la sobrecarga de Fe⁽³⁻⁸⁾.

Si bien todos estos adelantos mejoraron la calidad de vida y el fenotipo de la enfermedad, el impacto real sobre la sobrevida no es tan categórico debido a las complicaciones relacionadas con las transfusiones repetidas y la falta de adherencia a la terapia quelante que potencialmente pueden presentar estos pacientes. La eficacia de los quelantes depende fundamentalmente de la adherencia, siendo ésta variable muy difícil de controlar con una medicación oral de por vida. La adherencia también depende de las irregularidades en los suministros de la terapia derivada de sus altos costos.

El único tratamiento potencialmente curativo disponible para la β -TM es el trasplante de células

progenitoras hematopoyéticas (TCPH). Este procedimiento cuenta actualmente con una gran experiencia internacional. Desde el primer TCPH realizado en Seattle⁽⁹⁾ en 1982, más de 6.000 TCPH se han realizado en todo el mundo⁽¹⁰⁻¹³⁾. El objetivo del TCPH es reemplazar el gen defectuoso con un nuevo sistema hematopoyético proveniente de un hermano histocompatible (hermano HLA compatible) o de un donante no relacionado compatible.

El TCPH alogénico de hermano HLA compatible proporciona la posibilidad de altas tasas de curación (> 80%). Debido a la falta de donantes, en los últimos años distintos adelantos han logrado que los resultados del TCPH no relacionado sean muy similares a los relacionados^(11,12). La terapia génica dio un gran avance utilizando el TCPH autólogo para el remplazo de genes en las células madres hematopoyéticas autólogas utilizando vectores virales. Distintos estudios de investigación de fase I, II y III demostraron la utilidad del TCPH autólogo como vehículo de la terapia génica mostrando un nuevo rumbo en el tratamiento de distintas enfermedades genéticas, incluyendo a la β -TM, al evitar las complicaciones relacionadas con la enfermedad injerto vs. huésped (EICH), el rechazo y la disponibilidad de los donantes que están involucradas con los TCPH alogénicos convencionales⁽¹⁴⁾.

En la actualidad, el TCPH alogénico de hermano HLA compatible logra una sobrevida (S) del 90% con tasas de sobrevida libre de enfermedad (SLE) a 2 años de más del 80%. Sin embargo, este procedimiento tiene un riesgo potencial de mortalidad general del 12% dentro de los 2 años posteriores al trasplante. Los riesgos del TCPH se relacionan en gran medida con los regímenes de acondicionamiento mieloablativos intensivos, a la EICH y a la falla del injerto. Los mejores resultados clínicos del TCPH se logran en niños menores de 14 años debido a la menor cantidad de transfusiones con la consiguiente menor sobrecarga de Fe. En los pacientes pediátricos con un hermano HLA compatible se debe indicar un TCPH a una edad temprana.

Una de las grandes problemáticas del TCPH de hermanos HLA compatible es que estadísticamente sólo el 20 a 25% van a disponer de un hermano compatible. Por esa razón, en los últimos años han aparecido distintas experiencias en TCPH no relacionados utilizando donantes HLA compatibles de los distintos registros internacionales. Los resulta-

dos utilizando un donador no relacionado mejoraron al seleccionar donantes mediante tipificación molecular de alta resolución para los *loci* HLA clase I y II.

Otras de las posibilidades terapéuticas es la realización de un TCPH de hermano HLA asociado al diagnóstico genético preimplantacional y la tipificación del HLA. Este tipo de técnica presenta grandes debates éticos y legales, además de consideraciones psicológicas para la familia.

El uso de TCPH haploidénticos utilizando como fuente de progenitores hematopoyéticos (PH) a miembros de la familia se considera todavía en etapa experimental.

Distintos estudios internacionales abordaron la problemática costo/efectividad para pacientes pediátricos con β -TM. Los costos económicos del TCPH varían dependiendo de los países que se realizan el TCPH. Así, el costo estimado para un paciente con β -TM que se somete con éxito al TCPH en dólares estadounidenses (USD) en Taiwán es de 110.500, en México 13.000, en Japón 10.000, en Tailandia 24.000, en Austria 175.000. En Argentina, el costo promedio aproximado de un TCPH de hermano compatible es de 34.000 y de un no relacionado 60.000. Los costos estimados asociados con el TCPH son más bajos que los de la terapia transfusional y de la terapia quelante de por vida. Por lo tanto, se considera al TCPH una opción de tratamiento costo efectivo para los niños con β TM. S Coquerelle et al⁽¹⁵⁾ en 2018 realizaron un estudio de costo entre pacientes con TCPH vs. pacientes con terapia génica. Los autores tomaron en cuenta diversos ítems para estudiar los costos, como las complicaciones de grado III y IV y la duración de la estancia hospitalaria. Los costos se estimaron a partir de la información contable del hospital y los estudios de costos nacionales. Si bien las complicaciones infecciosas fueron tres veces más frecuentes para los pacientes tratados con TCPH que para la terapia génica, los costos promedio fueron más altos para la terapia génica (608.086 €) vs. los pacientes que se realizaron un TCPH (215.571 €).

Se requiere un criterio clínico y metodológico individual importante en la decisión de realizar o no un TCPH. Los resultados recientes muestran que, con los enfoques de trasplante moderno y la selección cuidadosa de los pacientes, se podrían obtener resultados cada vez mejores. En relación a los costos

también hay que considerar el país y región de residencia de los pacientes, ya que la disponibilidad de la terapia quelante de por vida y la disponibilidad de la terapia génica se limitan a los países industrializados o a países con un apoyo del estado para las patologías de alto impacto económico. Esta situación no es la realidad de todos los pacientes con β -TM. Por lo tanto, en la actualidad, el TCPH sigue siendo el único enfoque curativo disponible para la TM, pero su papel debe evaluarse cuidadosamente, particularmente en un entorno global.

Otra de las problemáticas importantes del tratamiento de la β -TM es la falta de estudios controlados comparativos donde se analizan los resultados del TCPH vs, otros tratamientos. Esta problemática es frecuente en enfermedades genéticas y, por lo tanto, las decisiones sobre la selección de pacientes para el TCPH o las terapias clásicas siguen dependiendo principalmente de los datos de los análisis retrospectivos y de la experiencia clínica de los centros de trasplantes.

S. Patel y col. en 2018 realizaron un estudio comparando la calidad de vida de los niños con talasemia mayor que se han sometido a TCPH vs. los que reciben terapia transfusional y terapia quelante. El estudio incluyó a 40 niños que se sometieron a un TCPH y 40 niños y 20 adultos en transfusión regular y terapia quelante con Fe. La evaluación de la calidad de vida se realizó utilizando la escala básica genérica de calidad de vida pediátrica. Los autores concluyen que el trasplante mejora la calidad de vida en pacientes con β -TM.

TCPH alogénico en β -TM: desde la experiencia italiana de Pesaro hasta la actualidad

Entre los años 80 y principios de los 90 en el centro de trasplante en Pesaro más de 1000 pacientes con β -TM realizaron TCPH de hermano HLA compatible logrando una SLE a 20 años del 73%. La experiencia de Pesaro demostró que el estado del paciente al momento del TCPH es el elemento crítico que predice el resultado del procedimiento. El análisis estadístico de los primeros 500 pacientes trasplantados demostró 3 factores de riesgo y 3 clases de riesgo significativos a partir de si el paciente presentaba o no presentaba:

- 1) hepatomegalia > 2 cm
- 2) fibrosis portal por biopsia
- 3) historia de TQ del hierro irregular.

La categorización del riesgo pre-trasplante permitió el ajuste de los regímenes de preparación, mejorando así el pronóstico post TCPH. En la Tabla 1 se resumen los grupos de riesgo y la SLE dependiendo de si los pacientes son pediátricos o adultos y de la combinación de los grupos de riesgo^(16,17).

En la Tabla 2 se puede observar los resultados históricos del grupo de Pesaro dependiendo de los grupos de riesgo y la edad del paciente.

Debido a la disminución de la SLE por el aumento de la MRT de los pacientes pediátricos clase 3 el grupo Pesaro decidió disminuir la dosis de la CFM del régimen acondicionante de 200 a 120/160 mg/kg. Si bien disminuyó la MRT, aumentó la falla de prendimiento de 13 a 35%, probablemente debido a una inmunosupresión inadecuada y, por lo tanto, a una falla en erradicar la hiperplasia eritroide medular masiva. El protocolo 26 logró en pacientes clase 3 mal quelados tener una SLE similar a la clase 1 y 2: 91%, 83% y 85% respectivamente, con una baja MRT y falla de prendimiento. Las bases racionales

Tabla 1. SLE y grupos de riesgo en TCPH histoiéntico: experiencia de Pesaro

Grupo	Características	SLE (%)
Clase 1 (riesgo bajo)	Ausencia de hepatomegalia y de fibrosis portal. TQ correcto.	95
Clase 2 (riesgo intermedio)	Una o dos características: hepatomegalia, fibrosis hepática o TQ incorrecta	85
Clase 3 (riesgo alto)	Presentan los tres factores de riesgo	78
Adultos	Con frecuencia pertenecen a la clase 3	67

Tabla 2. Resultados generales del TCPH de hermano HLA Idéntico de acuerdo a clase y si el paciente es pediátrico o adultos. Experiencia de Pesaro:

Grupo de riesgo	Clase 1	Clase 2	Clase 3 pediátrico < de 17 años	Clase 3 adultos > 17 años	Protocolo disminución de CFM	PROTO-COLO 26: < 17 años
N: pacientes	119	291	127	115	68	33
Régimen acondicionante	BU: 14 CFM: 200	BU: 14 CFM: 200	BU: 14 CFM: 200	BU: 14 CFM: 200	BU: 14 CFM: 120/160	Hipertransfusión. + deferoxamina Hidroxiurea y azatioprima Bu+ fludarabina
Profilaxis para el EICH	CSA + MP+ MTX	CSA + MP+ MTX	CSA + MP+ MTX	CSA + MP+ MTX	CSA + MT+ MTX	CFM 7.5 mg/kg/ día 1. MTX 10 mg/m2: días +3+6; CSA: 5 mg/kg
S	93%	87%	79%	66%	74%	93%
SLE	91%	83%	58%	62%	49%	85%
MRT	8%	15%	19%	35%	24%	6%
Falla de prendimiento	2%	3%	28%	5%	35%	6%

de este logro es el mejor control de la sobrecarga de Fe pre TCPH con el uso previo de la deferoxamina en conjunto con la disminución de la hiperplasia eritroide pre TCPH con el uso de la hidroxiurea y la azatioprima.

En la última década, casi todos los centros de trasplantes han seguido la clasificación de Pesaro por ser simple para predecir los riesgos y beneficios del TCPH, indicándolo en los primeros años de vida antes de que se hayan desarrollado complicaciones

relacionadas con el hierro. Sin embargo, en la actualidad esta clasificación está siendo revisada, dado que tiene limitaciones cuando se aplica a pacientes que han sido mal quelados. Para este tipo de pacientes de alto riesgo, se utiliza un enfoque basado en:

- 1) la edad (< o > de 7 años)
- 2) el tamaño del hígado (< o > 5 centímetros por debajo el margen costal).

Teniendo en cuenta estos 2 factores la MRT es < 5%.

Tabla 3. Factores que pueden afectar el éxito del TCPH

Factores de riesgo para TCPH alogénico
Sobrecarga de Fe
Régimen acondicionante
Edad al TCPH
Tipo de TCPH
Fuente: médula ósea (MO) vs. sangre periférica (SP)

En resumen, se reconocen cinco factores que pueden afectar el éxito del TCPH:

Datos publicados por el grupo Europeo de TCPH (EBMT) en 1061 casos de TCPH de hermano HLA compatible realizada en la última década demostraron una S global y una SLE de 91 ± 0.01 y 83 ± 0.01 meses, respectivamente. Además, en este informe hubo un umbral de edad significativo de 7 años para resultados óptimos (96% vs. 74% respectivamente) ⁽¹⁸⁾.

Regímenes acondicionantes: los aspectos biológicos de TCPH alogénico en β -TM son diferentes de los de las neoplasias malignas hematológicas, debido a que no hay necesidad de erradicar un clon maligno, no se requiere el efecto injerto contra tumor, los pacientes no han recibido quimioterapia y su sistema inmunológico no está afectado, tienen una MO hiperclonal y en adolescentes o adultos están generalmente sensibilizados a antígenos de los glóbulos rojos. En estas circunstancias, el régimen de acondicionamiento ideal debe ser capaz de erradicar la MO enferma y ser lo suficientemente inmunosupresora para permitir un injerto adecuado. Durante muchos años, el régimen preferido fue busulfán (BU) oral a 14 mg/kg + ciclofosfamida (CFM) a 120-200 mg/kg ^(18,19). La adición de azatioprina, hidroxurea y fludarabina al régimen BU- CFM logró una contribución importante a la mejora de los resultados en pacientes de alto riesgo. En la última década se introdujeron nuevos regímenes acondicionantes para pacientes con β -TM, con mejora de los resultados, tales como BU intravenosa, o treosulfán asociado con tiotepa y fludarabina. La disminución de la CFM de 200 mg/kg a ≤ 160 mg/kg adicionando azatioprina y fludarabina + quelación e hidroxurea desde el día -45.

Logró mejorar la SLE de pacientes de alto riesgo. La sustitución de la CFM por la fludarabina se ha incluido en el régimen de acondicionamiento por varios grupos con baja TRM y riesgo de rechazo reducida ⁽²⁰⁻²²⁾.

Indicaciones de TCPH alogénico de hermano HLA compatible para pacientes con β -TM

A los pacientes jóvenes que tienen un hermano HLA idéntico se le debe ofrecer un TCPH tan pronto como sea posible antes del desarrollo de sobrecarga de hierro y del daño a los tejidos relacionados con la sobrecarga de hierro transfusional. Los factores de riesgo relacionadas con los trasplantes deben ser

evaluados de acuerdo a la puntuación de riesgo de Pesaro. Debe evitarse utilizar la SP como fuente de PH debido al aumento del riesgo de EICH crónico ^(23,24).

TCPH de donantes alternativos

1. TCPH relacionado o no relacionado utilizando como fuente de PH la sangre de cordón umbilical (SC): en la actualidad hay una disminución pronunciada de la utilización en el mundo de SC como fuente para TCPH alogénico relacionado y no relacionado, debido a que, al comparar con los trasplantes que utilizan MO, con la SC tarda más el prendimiento, la recuperación inmune es más tardía y tiene mayor tasa de reactivación de citomegalovirus y Epstein-Barr. Muchos bancos de SC no relacionados han dejado de funcionar.

En 2003 Locatelli et al. realizaron el 1^{er} TCPH de hermano HLA compatible utilizando SC. Este tipo de TCPH se asoció con una disminución del riesgo de EICH aguda y crónica y de la MRT, siempre que la unidad CB tuviera un número adecuado de células nucleadas ($> 3.5 \times 10^7/\text{kg}$). Recientemente se ha completado un gran estudio internacional que compara retrospectivamente los resultados en TCPH utilizando como fuente MO vs. SC. Los análisis mostraron que la S global, la SLE y las tasas de EICH aguda y crónica fueron del 95%, 88%, 20% y 12%, respectivamente para los receptores de MO ($n = 389$) y el 96%, 81%, 10% y 5%, respectivamente para los receptores de SC ($n = 70$). En esta cohorte no hubo diferencia significativa entre las dos fuentes. No hay buenos estudios clínicos en el uso de TCPH de sangre del cordón umbilical no relacionado. La evaluación de los resultados reportados se ve obstaculizada por las diferencias en la experiencia de un solo centro, regímenes de acondicionamiento diferentes y grado aceptación dispar del HLA. Ruggieri et al demostraron con datos de 3 registros una SLE del 32% con una incidencia acumulada de fracaso del injerto del 52%.

Indicaciones de TCPH alogénico de CU relacionado y no relacionado para pacientes con β -TM:

en la actualidad esta fuente de TCPH no se está utilizando debido a distintas complicaciones relacionadas a esta fuente de PH como: prendimiento y recuperación inmune tardío y mayor tasa de reactivación de citomegalovirus y Epstein-Barr. No parece apropiado su utilización ^(24,25).

2. TCPH no relacionado: en la actualidad hay 13.000.000 de donantes altruistas disponibles en los bancos internacionales para TCPH no relacionados. En la última década se han mejorado sustancialmente los resultados en TCPH no relacionados llegando a SLE similares a los de los TCPH histoidénticos. La mejor tipificación del HLA (alta resolución), el mejor control de las infecciones, la utilización de profilaxis virales, bacterianas y micóticas, el uso de las cargas virales (PCR) para CMV y EBV para evitar la diseminación severa de estas infecciones, mejores profilaxis para la EIVH y regímenes acondicionantes adecuados son algunos de los factores que se relacionan con esta mejora en los resultados. Estadísticamente un donante adecuado se puede encontrar en un tercio de los pacientes caucásicos con β -TM. Los primeros informes de TCPH no relacionados para β -TM se caracterizaron por altas tasas de rechazo y de MRT en parte relacionada con la edad avanzada de los receptores y los métodos de selección de donantes. Los primeros resultados del registro internacional no fueron adecuados con una SLE del 21%. Modificaciones recientes en la selección de donantes y el acondicionamiento del trasplante han mejorado las tasas de SLE. La adición de hidroxiurea y azatioprina antes del acondicionamiento o de fludarabina, tiotepa y treosulfán lograron una SLE mayor al 80% en TCPH no relacionado. Estudios de los últimos años han demostrado que el TCPH no relacionado puede curar una gran proporción de pacientes con β -TM, siempre que se selecciona el donante utilizando tipificación de alta resolución molecular para ambas clases I y II de HLA y de acuerdo con criterios estrictos de compatibilidad con el receptor, es decir, 10/10 o 9/10. Si se dispone de un donante ideal el TCPH no relacionado es una opción adecuada para un niño con un buen control de la sobrecarga de hierro y ausencia de complicaciones tisulares relacionadas con el hierro. La fuente debe ser MO⁽²⁶⁾.

Lan Sun et al⁽²⁹⁾ reportaron este año excelentes resultados en 48 niños con β -TM que realizaron un TCPH no relacionado de SP entre agosto 2014 y agosto de 2018. Todos los pacientes estaban con sobrecarga de hierro. Los pacientes fueron acondicionados con busulfán + fludarabina + timoglobulina precedido por hidroxiurea y azatioprina previo al acondicionante. La incidencia de EICH aguda y crónica fue de 8.3% y la S y SLE 100%. La Nassa et al

publicaron los resultados de TCPH no relacionados en 68 pacientes. Sus resultados fueron: SLE: 65.8%; MRT: 18% y falla de prendimiento: 11%.

Indicaciones de TCPH no relacionado en β -TM: si se dispone de un donante apropiado (10/10 o 9/10), el TCPH no relacionado es una opción adecuada para un niño con buen control de la sobrecarga de hierro y ausencia de complicaciones tisulares relacionada a la sobrecarga, siempre y en cuanto se realice en un centro de gran experiencia en esta modalidad de TCPH. EL donante debe seleccionarse mediante la tipificación molecular de alta resolución para los *loci* HLA clase I y II, y de acuerdo con criterios estrictos de compatibilidad con el receptor.

3. TCPH haploidénticos para β TM

El TCPH haploidéntico es una opción terapéutica para tratar pacientes con enfermedades hematológicas que carecen de un hermano HLA idéntico o de un donante no relacionado. Distintas complicaciones limitan su utilización y este tipo de TCPH es considerado experimental para patologías no hematológicas como el caso de la β -TM. La EICH, las altas tasas de falla de prendimiento, la mayor incidencia de reactivaciones de CMV y EBV son algunas de las problemáticas que limitan su utilización. Sin embargo, los avances en el uso de altas dosis de células progenitoras CD34+ enriquecidas de sangre periférica sin células T utilizando Clin MACS CD34 o por técnica depleción de células T *in vivo* con regímenes intensivos de acondicionamiento con CFM post TCPH han ayudado a superar algunas de las limitaciones. La combinación de una megadosis de células CD34+ purificadas y un régimen de acondicionamiento altamente inmuno-mieloablativo es crucial para superar la barrera de precursores de linfocitos T citotóxicos residuales del donante. Las megadosis de células progenitoras CD34+ enriquecidas se pueden lograr mediante la combinación de MO con G-CSF o con SP movilizadas con G-CSF. A partir de entonces, las células T pueden eliminarse por selección positiva para CD34. Limitar los números de células CD3+ en el injerto podría permitir tener un injerto rápido proporcionado por las células movilizadas, al tiempo que se reduce el riesgo de EICH extensa. La presencia de células fetales en la sangre materna y de las células de la madre en la sangre fetal sugiere que puede existir tolerancia inmunológica entre la madre y la descendencia. Sin

embargo, la cantidad de partos previo al TCPH puede ser un condicionamiento para utilizar a la madre, debido a la presencia de anticuerpos anti-HLA que puede presentar el niño⁽²⁶⁾.

En conclusión: la corrección del defecto genético subyacente a través del TCPH es actualmente la única terapia curativa para los pacientes con β -TM. Desafortunadamente, el acceso a esta terapia puede estar limitado por los recursos del sistema médico y por la disponibilidad de donantes óptimos. Los pacientes que más se benefician son los más jóvenes cuyos RT y TQ han sido eficaces y que, por lo tanto, no presentan daño tisular por la sobrecarga de Fe. Se han descrito factores predictivos de aumento de la MRT que incluyen hepatomegalia, fibrosis portal y antecedentes de terapia inadecuada de quelación del Fe. Los resultados del TCPH son mejores con un hermano HLA compatible. Si bien la experiencia

es menor el TCPH no relacionado, está disponible para aproximadamente el 50% de los pacientes de origen caucásico y sus resultados han mejorado al tener en cuenta la tipificación del HLA por alta resolución y mejorar los regímenes acondicionantes. Finalmente, los donantes parentales haploidénticos son una opción más fácilmente disponible, pero con mayores riesgos de EICH, MRT y falla del injerto. Actualmente se deben usar sólo en el entorno de ensayos clínicos. Por lo tanto, es importante sopesar cuidadosamente los riesgos asociados con el trasplante frente a las complicaciones conocidas de la talasemia. Se requiere un criterio clínico y metodológico individual importante en la decisión de realizar o no un TCPH. Los resultados recientes muestran que con los enfoques de trasplante moderno y la selección cuidadosa de los pacientes, se obtienen resultados cada vez mejores: SLE: 80-90%.

Conflictos de interés: El autor declara no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

1. Domenica Cappellini, Duran Canatan, Alan Cohen, Guillermo Drelichman et col. Iron chelation with deferasirox in adult and pediatric patients with thalassemia major: efficacy and safety during 5 years' follow-up. *Blood*. 2011;118(4).
2. Maria Domenica Cappellini, Alan Cohen, Antonio Piga, Guillermo Drelichman y col. A phase 3 study of deferasirox (ICL670) once-daily oral, iron chelator, in patient with beta-thalassemia. *Blood*. 2006;107.
3. Pennell DJ, Porter JB, Cappellini MD y col. Efficacy of deferasirox in reducing and preventing cardiac iron overload in beta-thalassemia. *Blood*. 2010;115(12):2364-2371.
4. Pennell DJ, Porter JB, Cappellini MD y col. Efficacy and safety of deferasirox (Exjade) in beta-thalassemia patients with myocardial siderosis: 2-years results from the EPIC cardiac sub-study [abstract]. *Blood*. 2009;114(22): Abstract 4062.
5. Rodolfo Cancado, Nora P Watman, Clarisse Lobo, Guillermo Drelichman y col. Assessment of liver and cardiac iron overload using MRI in patients with chronic anemias in Latin American countries: results from ASIMILA study. *Hematology*. 2018;23(9):676-682.
6. Wood JC. Impact of iron assessment by MRI. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2011:443-450. doi:10.1182/asheducation-2011.1. 443. PubMed PMID: 22160072.
7. Lobo C, Angulo IL, Aparicio LR y col. Retrospective epidemiological study of Latin American patients with transfusional hemosiderosis: the first Latin American epidemiological study in iron overload--the RELATH study. *Hematology*. 2011 Sep;16(5):265-273. doi:10.1179/102453311X13085644680302. PubMed PMID: 21902889.
8. Araujo A, Drelichman G, Cancado RD y col. Management of transfusional iron overload in Latin America: current outlook and expert panel recommendations. *Hematology*. 2009 Feb;14(1):22-32. doi: 10.1179/102453309X385179. PubMed PMID: 19154661.
9. Thomas ED, Buckner CD, Sanders JE, Papayannopoulou T y col. Marrow transplantation for thalassaemia. *Lancet*. 1982;2 (8292):227-9.
10. Angelucci E. Hematopoietic stem cell transplantation in thalassemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Pro-*

- gram. 2010; 2010: 45662.
11. Bernaudin F, Socie G, Kuentz M, Chevret S y Col. Long-term results of related myeloablative stem-cell transplantation to cure sickle cell disease. *Blood*. 2007; 110(7):2749-56.
 12. Jagannath VA, Fedorowicz Z, Al Hajeri A, Hu N, Sharma A. Hematopoietic stem cell transplantation for people with ss-thalassaemia major. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011;(10):CD008708.
 13. Bernardo ME, Piras E, Vacca A, Giorgiani G y col. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in thalassemia major: results of a reduced-toxicity conditioning regimen based on the use of treosulfan. *Blood*. 2012;120(2):473-6.
 14. Cavazzana-Calvo M, Payen E, Negre O, Wang G y col. Transfusion independence and HMGA2 activation after gene therapy of human beta-thalassaemia. *Nature*. 2010; 467(7313):318-22.
 15. Séverine Coquerelle, Mariem Ghardallou, Setti Rais, Pierre Taupin y col. Novative curative treatment of β -ta-thalassemia: cost-efficacy analysis of gene therapy versus allogenic hematopoietic stem cell transplantation. *Human Gene Therapy*. DOI: 10.1089/hum.2018.178
 16. Galambrun C, Pondarre C, Bertrand Y, Loundou A et al. French multicenter 22-year experience in stem cell transplantation for beta-thalassemia major: lessons and future directions. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013;19(1):62-8.
 17. Mathews V, George B, Viswabandya A, Abraham A y col. Improved Clinical Outcomes of High Risk beta Thalassemia Major Patients Undergoing a HLA Matched Related Allogeneic Stem Cell Transplant with a Treosulfan Based Conditioning Regimen and Peripheral Blood Stem Cell Grafts. *PLoS One*. 2013; 8(4).
 18. Centis F, Tabellini L, Lucarelli G, Buffi O. The importance of erythroid expansion in determining the extent of apoptosis in erythroid precursors in patients with beta-thalassemia major. *Blood*. 2000; 96(10):3624-9.
 19. Thompson AA, Cunningham MJ, Singer ST, Neufeld EJ y col. Red cell alloimmunization in a diverse population of transfused patients with thalassaemia. *Br J Haematol*. 2011;153(1):121-8.
 20. Li C, Wu X, Feng X, He Y y col. A novel conditioning regimen improves outcomes in beta-thalassemia major patients using unrelated donor peripheral blood stem cell transplantation. *Blood*. 2012;120 (19):3875-81.
 21. Choudhary D, Sharma SK, Gupta N, Kharya G y col. Treosulfan thiotepea-fludarabine-based conditioning regimen for allogeneic transplantation in patients with thalassemia major: a single center experience from north India. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013;19(3):492-5.
 22. Hussein AA, Al-Zaben A, Ghatasheh L, Natsheh A y col. Risk Adopted Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation Using a Reduced Intensity Regimen for Children with Thalassemia Major. *Pediatr Blood Cancer*. 2013;19(10):24493.
 23. Jaing TH, Hung IJ, Yang CP, Chen SH y col. Unrelated cord blood transplantation for thalassaemia: a single-institution experience of 35 patients. *Bone Marrow Transplant*. 2012; 47(1):33-9.
 24. Ruggeri A, Eapen M, Scaravadou A, Cairo MS y col. Umbilical cord blood transplantation for children with thalassemia and sickle cell disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011;17(9):13758.
 25. Emanuele Angelucci, Susanne Matthes-Martin Donatella Baronciani y col. Hematopoietic stem cell transplantation in thalassemia major and sickle cell disease: indications and management recommendations from an international expert panel. *Haematologica*. 2014; 99(5).
 26. Lan Sun, Na Wang, Yi Chen, Liyuan Tang y col. Unrelated donor peripheral blood stem cell transplantation for patients with β -thalassaemia major based on a novel conditioning regimen. *Blood and Marrow Transplantation*. 2019;doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2019.03.028>



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.

Talasemias dependientes y no dependientes de transfusiones. Bases moleculares, clínica y manejo convencional

Transfusion dependent and non-transfusion-dependent thalassemia
Molecular basis, clinical manifestations and conventional treatment

Feliu Torres AS

Médica Hematóloga

Servicio de Hematología – Oncología, Hospital de Pediatría “J.P. Garrahan”

afeliu@garrahan.gov.ar



TALASEMIA
INTERMEDIA
VS TALASEMIA
MAYOR

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 82-92
Octubre 2019

Palabras claves: talasemia,
transfusión,
tratamiento quelante.

Keywords: thalassemia,
transfusion,
iron-chelating therapy.

Introducción

Los desórdenes hereditarios de la hemoglobina (Hb) son extremadamente frecuentes. Aproximadamente 7% de la población mundial es portadora de alguno de estos defectos, y alrededor de 300.000 individuos por año nacen con formas graves según la OMS. La distribución inicialmente restringida a zonas endémicas de paludismo se ha extendido a todo el mundo como consecuencia de las migraciones poblacionales⁽¹⁾.

Las hemoglobinopatías pueden clasificarse en dos grupos. El primero incluye a los trastornos estructurales (Hb S, Hb C, Hb E. etc.) mientras que el segundo, las talasemias, abarca a los defectos en la síntesis de las cadenas de globina.

La prevalencia alta de estos defectos determina la aparición de una gran variedad de fenotipos caracte-

rizados por eritropoyesis ineficaz, hemólisis y anemia con requerimiento transfusional de esporádico a regular⁽²⁾.

Bases moleculares de las talasemias.

La síntesis normal de hemoglobina (Hb) está controlada por dos grupos (*clusters*) de genes ubicados en el cromosoma 16 (globinas de tipo α) y otro en el cromosoma 11 (globinas de tipo β). Los genes en dichos *clusters* se disponen a lo largo del cromosoma en el orden en que se expresan para producir los diferentes tetrámeros de Hb durante la etapa embrionaria, fetal y postnatal⁽³⁾.

Los defectos moleculares en estos genes constituyen las bases para la síntesis defectuosa de Hb y dan origen a las diferentes formas de hemoglobinopatías⁽²⁾.

Beta talasemias

Se han reportado más de 300 alelos β talasémicos, pero sólo 40 representan el 90% de las β talasemias en el mundo. Esto es debido a que en las áreas donde las talasemias son prevalentes sólo un grupo de mutaciones son frecuentes, probablemente debido a la selección determinada por el paludismo^(1,4).

Las β talasemias pueden ser producidas por un abanico de mutaciones que incluye a mutaciones puntuales, pequeñas delecciones dentro del gen *HBB* o delecciones extensas de todo el *cluster* β o del β LCR (*locus control region*). Sin embargo, es necesario destacar que las delecciones no son frecuentes en β talasemia, mientras que la mayoría son el resultado de mutaciones puntuales⁽⁴⁾.

El genotipo se denomina β^0 cuando la producción de globina β es nula o β^+ cuando existe producción disminuida de la globina. A su vez, dentro de las β^+ existen alteraciones menos severas, identificadas como β^{++} , en las cuales la producción de β globina está apenas ligeramente comprometida. Los portadores “silentes” de estas mutaciones β^{++} muestran un fenotipo hematológico normal, con índices y Hb A₂ en rango normal. Estas mutaciones se detectan en individuos con β talasemia intermedia (doble heterocigotas) que han heredado otra mutación más severa. El estudio familiar, en estos casos, permite identificar un progenitor con β talasemia menor (portador) y otro aparentemente normal⁽⁵⁾.

Beta talasemias no delecionales

Son el resultado de mutaciones puntuales (sustitución de una base), pequeñas inserciones o delecciones de una o varias bases dentro del gen *HBB* o de las regiones flanqueantes.

Cada una de las etapas de la expresión génica se verá afectada, desde la transcripción al procesamiento del ARN y la traducción del ARNm. La mayoría de las mutaciones no delecionales suprimen completamente la producción de β globina⁽⁵⁾.

Beta talasemias delecionales

Las delecciones no son frecuentes. Se han descrito aproximadamente 15 que remueven la región 3' del gen dejando intacta la región 5'. En algunas regiones de India y Pakistán la delección 0.6 Kb en la región 3' es frecuente y la presenta la tercera parte de los pacientes con talasemia. Otras delecciones de extensión variable tienen en común la remoción de una región en el promotor β que incluye CACCC,

CCAAT y elementos TATA. Si bien son infrecuentes, se caracterizan por niveles altos de Hb A₂ y Hb F en los heterocigotas y, a pesar de anular completamente la producción de globina β , los niveles elevados de Hb F compensan la ausencia de Hb A en los homocigotas para estas delecciones⁽⁶⁾.

Beta talasemia dominante

Algunas formas de talasemia se heredan de manera dominante, es decir sólo una copia del gen mutado determina enfermedad severa. Estos individuos “portadores” presentan anemia, moderada a grave, esplenomegalia, aumento de Hb A₂, y desequilibrio en la síntesis de globinas.

Las talasemias dominantes son el resultado de mutaciones con sentido equivocado (*missense*) de una base, pequeñas inserciones / delecciones que cortan o elongan la globina β con porciones carboxiterminal anormales. El resultado común de estas variantes es la producción de globina β inestable y no funcional, incapaz de formar tetrámeros con la globina α . Estas globinas precipitan y, junto con las globinas α saturan el sistema proteolítico determinando la muerte prematura de las células eritroides (eritropoyesis ineficaz).

Estas mutaciones infrecuentes se encuentran en áreas no endémicas de paludismo y suelen restringirse a los casos reportados, muchas ocurren como mutaciones de *nov*o⁽⁷⁾.

Alfa talasemias

La síntesis defectuosa de globina α es el resultado de más de 120 mutaciones que afectan a los genes α . La mayoría de ellas son delecciones de extensión variable que pueden comprometer tanto a los genes α como remover elementos reguladores río arriba, dejando indemnes a los genes α ⁽⁸⁾ (Tabla 1).

Las mutaciones no delecionales no son frecuentes, incluyen mutaciones puntuales, inserciones o delecciones de oligonucleótidos. El grado de reducción de la síntesis de globina α en las talasemias no delecionales es mayor que en las delecionales. Esto podría explicarse, en parte, por la falta de aumento compensatorio en la expresión de los genes remanentes funcionales. Las mutaciones no delecionales pueden, a su vez, determinar la síntesis de globinas inestables, afectar el procesamiento y traducción de ARNm y la estabilidad de la proteína.

Cabe destacar la existencia de mutaciones en el gen

ATRX, localizado en el cromosoma X, responsable de α talasemia, retraso madurativo, dismorfias faciales y anomalías genitales. A pesar de no conocerse el mecanismo exacto, se cree que *ATRX* actúa como una proteína remodeladora de la cromatina, facilitando la expresión de los genes α .

La severidad clínica de las α talasemias depende del número de genes α funcionales. La presencia de tres genes funcionales (α^+ talasemia, $-\alpha/\alpha\alpha$) determina cambios hematológicos mínimos que suelen pasar inadvertidos (portador silente), mientras que la presencia de dos genes funcionales ($--/\alpha\alpha$ o $-\alpha/-\alpha$) ocasiona una anemia microcítica hipocrómica leve (portador leve). La herencia de un solo gen α determina una anemia de severidad variable (alfa talasemia con Hb H) y la ausencia completa ($--/--$) resulta en hidropesía fetal con Hb Bart's, incompatible con la vida, a menos que se instituya un régimen transfusional intraútero y postnatal.

Las manifestaciones clínicas de las α talasemias no delecionales son complejas, sobre todo las que involucran a los elementos reguladores río arriba, en particular MCS-R2, dado que anulan hasta un 90% la expresión de los genes α en el mismo cromosoma⁽⁸⁻⁹⁾.

Hemoglobina E

La Hb E es el resultado de la sustitución G→A en el codón 26 del gen *HBB*, que produce una Hb estructuralmente anormal y que, además, activa un sitio de empalme crítico que resulta en un procesamiento anormal del ARNm. El nivel de procesamiento de ARNm normal está disminuido y dado que se genera un nuevo codón de fin de lectura, el producto del ARNm anormal no es funcionante. En consecuen-

cia, la síntesis de Hb E está reducida y se comporta como una hemoglobinopatía talasémica. La Hb E es común en áreas donde la β talasemia también lo es, por lo tanto los individuos doble heterocigotas son frecuentes. La fisiopatología de la HbE/ β talasemia depende de múltiples factores que incluyen el grado de desequilibrio en la síntesis de cadenas de globina α/β como resultado del tipo de mutación en el gen *HBB*, y la consecuencia de dicho desequilibrio (eritropoyesis ineficaz, apoptosis, daño oxidativo y hemólisis). La inestabilidad de la Hb E jugaría un rol menor.

El genotipo HbE/ β talasemia es responsable de casi el 50% de las formas graves de talasemia en el mundo. Desde el punto de vista clínico, el fenotipo es muy heterogéneo. La variabilidad fenotípica, consecuencia de las mutaciones en el gen *HBB*, la co-herencia de alfa talasemia y los polimorfismos que incrementan la síntesis de Hb F, determinan un desafío para el manejo adecuado de estos pacientes⁽¹⁰⁾.

Relación geno-fenotipo y modificadores genéticos

Las talasemias, a pesar de ser desórdenes monogénicos, presentan una heterogeneidad clínica importante que puede explicarse en parte por el tipo de mutación y el grado de desequilibrio en la síntesis de globinas. Sin embargo, individuos con iguales mutaciones pueden presentar fenotipos diferentes como resultado de la herencia de modificadores genéticos que alteran el desequilibrio entre las cadenas globinas $\alpha/$ no α o bien la presencia de modificadores genéticos que actúan sobre complicaciones en la evolución de la enfermedad.

Entre los modificadores que empeoran la gravedad

Tabla 1. Defectos moleculares en α talasemia

Tipo de defecto	Genotipo	Ejemplo
Deleciones		
Delección de un solo gen α en un cromosoma	$-\alpha$ o $\alpha-$	$\alpha^{-3.7}$, $\alpha^{-4.2}$
Delección que remueve ambos genes α en un cromosoma	--	-- ^{Med I} , -- ^{SEA} , -- ^{THAI} , -- ^{FIL}
Deleciones que remueven elementos regulatorios río arriba	$(\alpha\alpha)^T$	$(\alpha\alpha)^{RA}$ $(\alpha\alpha)^{ALT}$ $(\alpha\alpha)^{JX}$
Mutaciones no delecionales	$\alpha^T\alpha$ o $\alpha\alpha^T$	$\alpha^{IVS1(-5nt)}$ $\alpha^{Constant Spring}$

de la talasemia se destacan la co-herencia de un número mayor de genes α ($\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha$, $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha$). Por el contrario, tanto el aumento en la síntesis de globina γ como la co-herencia de α talasemia pueden disminuir la gravedad de la enfermedad⁽⁴⁻⁷⁾ (Tabla 2).

Clasificación clínica

Tradicionalmente las talasemias se clasifican en talasemia mayor, intermedia y menor, pero desde 2012, como resultado de estudios observacionales se estableció una nueva clasificación clínica de los síndromes talasémicos, talasemias dependientes de transfusiones (TDT) y talasemias no dependientes de transfusiones (TNDT), resaltando el manejo clínico y las complicaciones que los pacientes, aun con anemia menos severa y sin requerimiento transfusional regular, pueden desarrollar a lo largo de la vida. Esta clasificación fue adoptada posteriormente por la Federación Internacional de Talasemia (TIF)

e incluida en sus guías para el diagnóstico y manejo⁽¹¹⁻¹²⁾.

Los pacientes con β talasemia intermedia, α talasemia con Hb H y Hb E/ β talasemia leve a moderada a menudo son incluidos en la categoría de TNDT, mientras que los pacientes con β talasemia mayor y las formas graves Hb E/ β talasemia se clasifican como TDT.

Diferenciar a los pacientes en TDT o TNDT exige una evaluación que incluye parámetros clínicos y de laboratorio. Los pacientes con β talasemia mayor y aquellos con hidropesía fetal con Hb Bart's que sobreviven, tienen un fenotipo grave y se reconocen con facilidad. Sin embargo, los otros síndromes talasémicos, que suelen ser evaluados inicialmente en el curso de un evento infeccioso, necesitan un seguimiento de al menos 3 meses para conocer el nivel basal real de hemoglobina, antes de clasificarlos como TDT o TNDT⁽¹³⁾ (Tablas 3 y 4)

Tabla 2. Modificadores genéticos en β talasemia

Factores que empeoran el fenotipo clínico de β talasemia heterocigota
o Mutaciones β talasemia dominante
o Co-herencia de exceso de genes α ($\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha$, $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha$, $\alpha\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha$)
Factores que disminuyen el fenotipo clínico de β talasemia homocigota o doble heterocigota
o Herencia de mutaciones leves (β^+ o β^{++})
o Síntesis aumentada de globina α y Hb F
• $\delta\beta^0$ talasemia
• Polimorfismos <i>XMNI-HBG2</i> (-158 C>T)
• Polimorfismos en <i>BCL11A</i> cromosoma 2p16
• Polimorfismos en HBS1L-MYB región intergénica o MYB cromosoma 6q23
• Mutaciones KLF1
o Co-herencia de α talasemia

Tabla 3. Clasificación de los síndromes talasémicos en función del requerimiento transfusional

	TNDT		TDT
Transfusiones nulas	Transfusiones ocasionales	Transfusiones intermitentes	Transfusiones regulares
Talasemia menor	Talasemia intermedia		Talasemia mayor
Alfa tal silente	Beta tal intermedia Hb C/beta tal		Hb H no delecional
Alfa tal leve	Hb E/beta tal leve	Hb H delecional	Hidropesía fetal Hb Bart's
Beta tal port	Hb H/beta tal port	Hb H no delecional	Beta tal mayor
Portador Hb E		Hb E/beta tal mod	Hb E/beta tal grave
Hb E homo			

Tal: talasemia, port: portador, homo: homocigota, mod: moderada Fisiopatología / Morbilidad

Fisiopatología / Morbilidad

La fisiopatología de los pacientes con TDT y TNDT es similar y las transfusiones, si bien mejoran o anulan los mecanismos fisiopatológicos, son responsables de complicaciones secundarias.

La característica de las talasemias es el desequilibrio en la producción de las cadenas de globina (α /no α), dando origen a la eritropoyesis ineficaz, hemólisis y un conjunto de complicaciones de severidad variable⁽¹⁴⁾.

Normalmente la producción de globinas α y β se realiza de manera tal que se previene la acumulación de globinas libres con su efecto dañino. En pacientes con talasemia, por ejemplo β talasemia, la producción normal de globina α continúa, acumulándose dentro de los eritroblastos. En condiciones normales, el efecto deletéreo de las globinas α libres es rápidamente anulado por la proteína estabilizadora de α hemoglobina (ASPH), que se une y estabiliza a las globinas α determinando el plegamiento proteico y evitando la digestión. El exceso de globinas α se destruye por proteólisis. En la β talasemia este exceso es tal que tanto la capacidad de ASPH como el sistema proteolítico están saturados, quedando cadenas de globina α libres que sufren autodigestión.

Se forman así monómeros de globina α que contienen hierro férrico (hierro oxidado) y especies oxígeno reactivas (ROS) que desencadenan una serie de eventos que incluyen la hemólisis y eritropoyesis ineficaz.

Los monómeros de globina α se degradan a través de la vía proteolítica dependiente de ubiquitina, una vía autofágica, y vías no enzimáticas desencadenadas por ROS que liberan hemina y hierro libre en estado férrico, que se adhiere a la membrana celular. El hemo y el hierro participan en la formación de nuevas ROS que dañan proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. Las alteraciones de la membrana, disminución de la deformabilidad y de la estabilidad (oxidación de banda 4.1, unión alterada espectrina-actina-banda 4.1), son responsables de la hemólisis. Por otra parte, la oxidación ocasiona el agrupamiento de la banda 3, generándose neoantígenos que unen Ig G y complemento, facilitando la remoción por el sistema reticuloendotelial.

La fisiopatología de la eritropoyesis es más compleja e incluye el aumento de la apoptosis. En la β talasemia, la apoptosis está mediada por el receptor de superficie de muerte celular (FAS) y FAS ligando, disparados por ROS. La sobreexpresión del fac-

Tabla 4. Características clínicas de los síndromes talasémicos más frecuentes

	Beta TM	Beta TI	HbE/ β tal	Hb H
Hb basal g/dL	<5	7-10	Leve 9-11 Moderada 6-7 Grave 4-5	2.5-13
Frotis SP	Microcitosis, hipocromía Eritroblastos circulantes, dianocitos, eritrocitos irregularmente contraídos, policromatofilia			
Otras pruebas	Prueba elución ácida positiva			Cuerpos inclusión PB prominente
Electroforesis	Hb F ~100% Hb A2 $\uparrow$	Hb F 10-50% Hb A2 $\geq 4\%$	Hb E 40-60% Hb F 60-40% $\pm$ Hb A (beta+ tal) Hb A2 $\uparrow$	Hb H 0.8-40% HbA2 $\downarrow$ Otras bandas (Hb CS)
Análisis molecular	Mutaciones comunes <i>HBB</i> (PCR) Mutaciones no frecuentes (secuenciación) Detección de mutaciones en genes <i>HBA2</i> , <i>HBA1</i> , <i>HBB</i> Polimorfismo XMN I			Deleciones gen HBA (GAP-PCR) <i>Mutaciones no delecionales (RDB)</i> Mutaciones desconocidas (<i>Southern blotting</i> , MLPA, secuenciación)

tor de diferenciación de crecimiento 11 (GDF11) en respuesta a ROS determina arresto de maduración eritroide, generando eritropoyesis ineficaz. La acción de GDF11 se produce vía receptor de activina (ActR) IIA, que se encuentra en la superficie eritroide. Además, la proteína *heat shock 70* (HSP70) interactúa con las cadenas de globina α libres siendo secuestrada en el citoplasma y evitándose su acción fisiológica, que consiste en proteger a GATA1 de su proteólisis. La degradación de GATA1 determina arresto de maduración y apoptosis de los eritroblastos⁽¹⁴⁻¹⁷⁾.

La figura 1 resume el mecanismo fisiopatológico en β talasemia.

Las consecuencias de la anemia hemolítica crónica son la litiasis vesicular, trastornos agudos y crónicos del crecimiento, la disfunción de órganos y vasculatura⁽¹⁸⁾.

Las deformidades y el daño óseo son secundarios a la expansión medular por la proliferación de los precursores eritroides. En un intento de compensación se reactivan focos de hematopoyesis extramedular, inicialmente hígado (hepatomegalia) y bazo (esplenomegalia), pero también otros sitios dando origen a pseudotumores, algunos de ellos en localizaciones graves como el canal espinal⁽¹⁹⁾.

La relación compleja entre las alteraciones de membrana eritrocitaria, plaquetas y factores de la coagulación determina el aumento de complicaciones trombóticas e hipertensión pulmonar que presentan los pacientes con talasemia, sobre todo los pacientes con TNDT esplenectomizados⁽²⁰⁾.

La absorción de hierro se encuentra aumentada como consecuencia de la eritropoyesis ineficaz. Varios factores (factor de diferenciación de crecimiento 15, *twisted-gastrulation 1*, y eritroferrona) han sido postulados como responsables de mediar entre médula ósea e hígado, inhibiendo la síntesis de hepcidina y favoreciendo así el ingreso de hierro al plasma desde el enterocito y desde los macrófagos. La magnitud de la sobrecarga de hierro, secundaria a este mecanismo, puede alcanzar niveles tales que generan daño orgánico sobre todo en el hígado⁽²¹⁾.

En las α talasemias el exceso de globina β determina la formación de tetrámeros β , Hb H, que precipitan en el interior celular formando cuerpos de inclusión característicos. La anemia hemolítica crónica y sus consecuencias predominan sobre la eritropoyesis ineficaz⁽²²⁾.

Dado que las transfusiones regulares corrigen en parte este mecanismo fisiopatológico, las manifestaciones previamente descritas se verán sólo en pacientes que no las reciben.

Manejo convencional de las talasemias

Sin intervención médica, las talasemias, excluidos los individuos heterocigotos, son enfermedades progresivas con morbilidad que aumenta con la edad. Con las opciones terapéuticas actuales y la mayor sobrevivencia, los pacientes pueden desarrollar múltiples complicaciones que impactan en la calidad de vida y padecer patologías como cáncer o enfermedades vasculares, de manera similar a la población no talasémica⁽²³⁾.

Transfusiones

El objetivo de la transfusión es proporcionar eritrocitos normales que, al brindar oxígeno a los tejidos, frenan y controlan los eventos desencadenados por la eritropoyesis ineficaz.

En la actualidad existen recomendaciones claras para el inicio de las transfusiones en pacientes con TDT⁽²³⁾:

- 1) Diagnóstico confirmado de talasemia
- 2) Criterio de laboratorio
 - a. Hb <7 g/dL en dos ocasiones, con una diferencia de 2 semanas, fuera de interurrencias (infecciones)
- 3) Criterio clínico
 - a. Hb > 7 g/dl con alguno de los siguientes hallazgos:
 - i. Cambios faciales
 - ii. Retardo de crecimiento
 - iii. Fracturas
 - iv. Focos de hematopoyesis extramedular

Los pacientes con TDT requerirán transfusiones a lo largo de la vida, administradas cada 2 a 5 semanas para mantener un nivel de Hb pre transfusión de 9-10.5 g/dL, asegurando por un lado el crecimiento normal, las actividades físicas y la supresión de la actividad medular, y por otro minimizando la acumulación de hierro transfusional⁽²⁵⁾.

Un nivel de Hb pre transfusional superior, 11-12 g/dl, es necesario en pacientes con enfermedad cardíaca, hematopoyesis extramedular o cuando no se alcanza una supresión adecuada de la eritropoyesis. Con respecto a pacientes con TNDT, las recomendaciones no son tan precisas, aunque se ha observado

un aumento en la morbilidad en pacientes con niveles de Hb <10 g/dL.

La Federación Internacional de Talasemia y el grupo de expertos⁽¹¹⁾ recomiendan considerar las transfusiones en pacientes con TNDT si:

- 1) Anemia grave Hb <5 g/dl
- 2) Transfusiones ocasionales en caso de embarazo, cirugía, infecciones.
- 3) Transfusiones más frecuentes hasta obtener el beneficio deseado en caso de:
 - a. Caída de la Hb con aumento de la esplenomegalia (más de 3 cm por año en periodo de crecimiento y desarrollo máximo)
 - b. Retardo de crecimiento (alteración en la curva de talla)
 - c. Mal rendimiento escolar
 - d. Mala tolerancia al ejercicio
 - e. Retardo puberal en relación a la edad ósea
 - f. Anomalías óseas
 - g. Crisis de hemólisis en pacientes con Hb H
 - h. Alteración de la calidad de vida.
- 4) Transfusiones para la prevención primaria, manejo o prevención secundaria de las siguientes complicaciones
 - a. Enfermedad trombótica o cerebrovascular
 - b. Hipertensión pulmonar con o sin insuficiencia cardíaca
 - c. Pseudotumores (hematopoyesis extramedular)
 - d. Úlceras en miembros inferiores

La terapia transfusional no está exenta de riesgos, entre los que se incluyen la sensibilización, la transmisión de infecciones y la sobrecarga de hierro⁽²⁶⁾.

A fin de evitar las dos primeras, existen recomendaciones precisas para la selección del donante, el manejo y la administración del producto, el que deberá ser leucodepletado para eliminar las reacciones adversas atribuidas a la contaminación leucocitaria⁽²⁴⁾. Ante la falta de un mecanismo adecuado para la excreción de hierro, las transfusiones determinarán una acumulación que oscila entre 0.3-0.6 mg/Kg por día. Saturada la capacidad del sistema reticuloendotelial, el hierro aumenta en circulación y es el hierro no unido a transferrina (NTBI) el responsable del daño tisular observado. El NTBI ingresa a las células y su acumulación genera ROS, con el daño posterior de proteínas, lípidos, ADN y organelas celulares (lisosomas, mitocondrias). La injuria determina disfunción celular, apoptosis y necrosis con el

resultado final de daño orgánico⁽²⁷⁾.

Sobrecarga de hierro

Independientemente de que la sobrecarga de hierro sea por aumento de la absorción o secundaria a un régimen regular de transfusiones, la misma produce morbilidad y mortalidad que exige su diagnóstico y tratamiento.

En los pacientes con TDT, el acúmulo de hierro en los tejidos es evidente en niños a partir de los 2 años⁽²⁸⁻³²⁾. La sobrecarga progresiva determina toxicidad y disfunción en corazón, hígado, glándulas endocrinas, etc. La cardiomiopatía fue la causa principal de muerte en pacientes con TDT, sin embargo, actualmente, estudios observacionales señalan una mortalidad aumentada por causas hepáticas⁽³³⁾.

En los pacientes con TNDT la sobrecarga es el resultado de un proceso acumulativo a lo largo de la vida, y es responsable de la morbilidad observada a partir de los 10-15 años^(12,23,32,34).

La sobrecarga cardíaca en TNDT no es frecuente, pero sí la relación entre sobrecarga de hierro hepática, fibrosis y hepatocarcinoma. Por otra parte, los pacientes con TNDT tienen un riesgo aumentado de desarrollo de trombosis, hipertensión pulmonar, ACV silentes, endocrinopatías, osteoporosis y enfermedad renal en relación al incremento de la sobrecarga de hierro^(32,35-37).

Existen varios métodos para medir la sobrecarga de hierro. La ferritina sérica está disponible en casi todo el mundo, y en algunos casos es la única manera de evaluar la sobrecarga de hierro. La determinación debe ser seriada, al menos cada 3 meses. Los niveles comúnmente utilizados para indicar el tratamiento quelante en TDT es ≥ 1000 ng/mL. Las concentraciones superiores a 2500 ng/mL se asocian a un riesgo aumentado de enfermedad endocrina y cardíaca y se utiliza como llamado de atención para optimizar o modificar el tratamiento quelante^(11,24). Si bien la asociación entre ferritina elevada y siderosis hepática es clara, el estudio de Aessopos y col. utilizando imágenes no logró establecer la asociación entre ferritina y enfermedad cardíaca⁽³⁸⁾. Dada la variabilidad de la ferritina sérica (reactante de fase aguda), las determinaciones únicas no permiten conocer la condición del paciente y puede llevar a tomar decisiones terapéuticas incorrectas.

Esto implica que, de disponerse de métodos tales como la RMN hepática y cardíaca, deberán reali-

zarse⁽²⁴⁾.

Una situación particular se presenta en los pacientes con TNDT, en los que el nivel de ferritina sérica no correlaciona estrictamente con el nivel de hierro hepático, cuando se los compara con pacientes con TDT con el mismo nivel de hierro hepático⁽³⁹⁾. Por lo tanto, los pacientes con TNDT con niveles de ferritina sérica superiores a 800 ng/mL tienen un riesgo aumentado de morbilidad, mientras que niveles inferiores a 300 ng/mL se asocian con ausencia de complicaciones. Estos niveles son los utilizados para determinar el inicio o el fin del tratamiento quelante en pacientes con TNDT^(24,32).

El hierro hepático guarda una correlación estrecha con el hierro corporal total. Inicialmente se determinaba por medio de la biopsia hepática, método que en la actualidad se reserva para situaciones especiales en las que es necesario evaluar la histología hepática⁽⁴⁰⁾.

El uso de SQUID (*superconducting quantum interference device*) sólo está disponible en muy pocos centros, y la RMN se ha convertido en el método no invasivo más utilizado en la última década para la evaluación tanto del hierro hepático (expresado en mg/g tejido seco) como cardíaco (expresado en ms)⁽⁴¹⁾.

Ciertos umbrales de hierro hepático y cardíaco se han relacionado a morbilidad en pacientes con talasemia. Así una concentración de hierro hepático superior a 7 mg/g indica riesgo aumentado de morbilidad y valores superiores a 15 mg/g se asocian a fibrosis hepática y mortalidad cardíaca. Los valores de T2* cardíaca menores de 20 ms son indicadores de fracción de eyección ventricular en disminución y se asocian a la aparición de arritmias, mientras que valores por debajo de 10 ms se relacionan con insuficiencia cardíaca y muerte. De esta manera estos umbrales son útiles para el monitoreo de los pacientes en la práctica clínica diaria.

En el caso de TNDP el umbral hepático es 5 mg/g, dado que este valor se asocia a un aumento de la morbilidad, indicando la necesidad de tratamiento

quelante.

En los pacientes con α talasemia el ritmo de sobrecarga de hierro es más lento, pero a pesar de ello necesitan tratamiento quelante que deberá ajustarse de manera particular a cada paciente.

Una vez iniciado el tratamiento quelante, independientemente del diagnóstico de base, el control debe ser regular a fin de evitar exponer el paciente a dosis superiores o inferiores en función del ingreso diario de hierro.

Las drogas quelantes disponibles en la actualidad son: deferoxamina (vía de administración parenteral, sc / ev), deferiprona comprimidos y solución (vía oral) y deferasirox comprimidos dispersables y recubiertos (vía oral). La tabla 5 muestra las características de las diferentes drogas quelantes.

Los estudios aleatorizados han demostrado la eficacia y seguridad de los quelantes orales para remover hierro del hígado y corazón, lo que ha significado un avance en el manejo de los pacientes, dada la facilidad de su administración en comparación con la deferoxamina sc⁽⁴²⁻⁴⁶⁾.

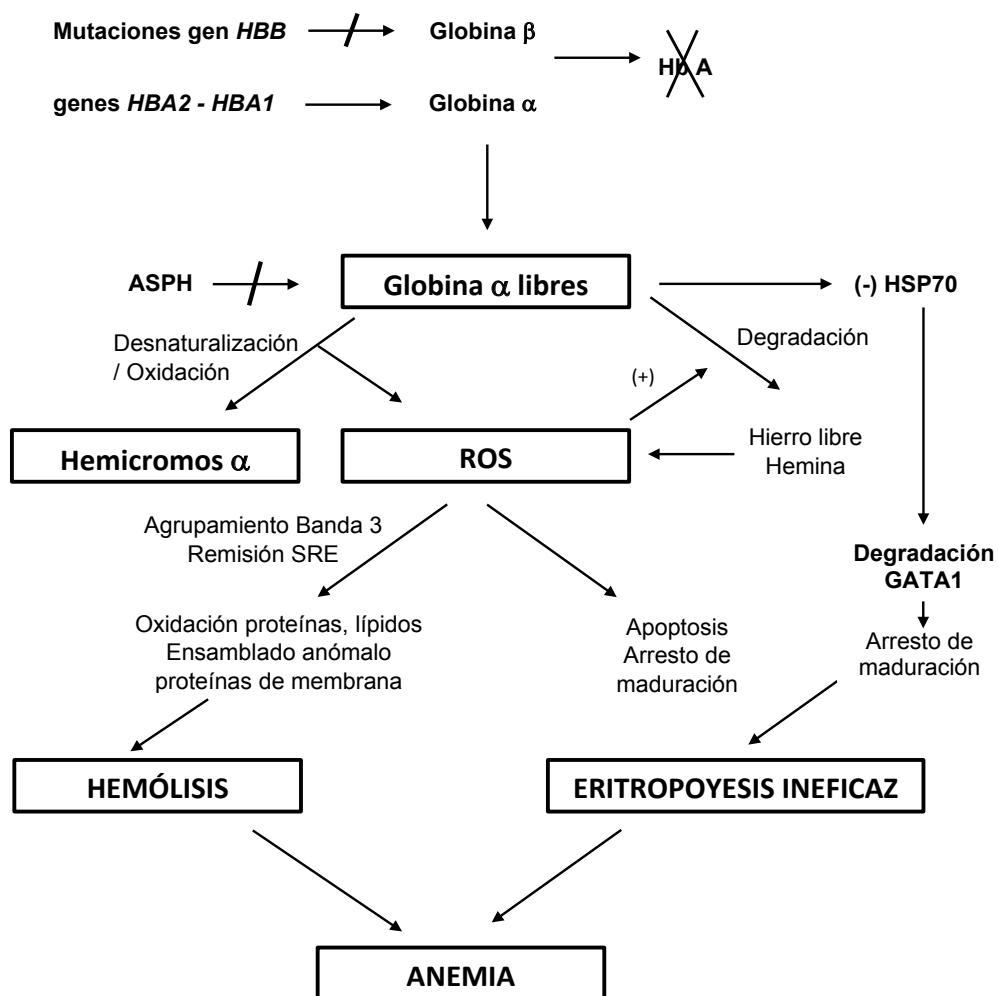
Pero a pesar de esto, la deferoxamina, sigue siendo la droga de elección en pacientes con daño cardíaco descompensado.

La clave para el manejo de la sobrecarga de hierro es la adherencia al tratamiento, independientemente de la droga que se indique, y se correlaciona con la sobrevida⁽⁴⁷⁾.

En los últimos años, las acciones para prevenir la enfermedad, la implementación de técnicas para la optimización de las transfusiones, el control de la sobrecarga de hierro y el desarrollo de nuevas drogas quelantes han permitido mejorar la calidad de vida de los pacientes, adaptando la terapia a cada caso en particular. Así, para aquéllos que no pueden acceder al trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, por falta de un donante adecuado, tienen la posibilidad de recibir un tratamiento convencional que incluye tanto la prevención como el manejo de las complicaciones de una enfermedad crónica.

Tabla 5. Drogas quelantes

Propiedad	Deferoxamina	Deferiprona	Deferasirox
Relación droga / Fe	Hexadentado	Bidentado	Tridentado
Tridentado	SC / EV	VO	VO
Dosis	30 - 60 mg/kg/d 8 - 10 hs 5-6 días / sem	75 - 100 mg/kg/d Dividido en 3 dosis	TDT 20- 40 mg/kg/d NTDT 5-20 mg/kg/d
Excreción	Urinaria, fecal	Urinaria	Fecal
Vida media	20 - 30 min	3 - 4 hs	8 - 16 hs
Efectos adversos	Reacciones locales Oculares Auditivas Reacciones alérgicas Óseas Pulmonares Neurológicas	Gastrointestinales Agranulocitosis ↑ TGO/TGP	Gastrointestinales Cutáneas ↑ Creatinina Proteinuria Oculares Auditivas ↑ TGO/TGP

Figura 1. Fisiopatología de la β talasemia

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

Bibliografía

1. Weatherall DJ. The inherited diseases of hemoglobin are an emerging global health burden. *Blood*. 2010 Jun 3;115(22):4331-6.
2. Higgs DR, Engel JD, Stamatoyannopoulos G. Thalassemia. *Lancet*. 2012 Jan 28;379(9813):373-83.
3. Stamatoyannopoulos G. Control of globin gene expression during development and erythroid differentiation. *Exp Hematol*. 2005 Mar;33(3):259-71.
4. Thein SL. Molecular basis of β thalassemia and potential therapeutic targets. *Blood Cells Mol Dis*. 2018 May;70:54-65.
5. Thein SL. The molecular basis of β -thalassemia. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013 May 1;3(5)a011700.
6. Thein SL. Genetic Basis and Genetic Modifiers of β -Thalassemia and Sickle Cell Disease. *Adv Exp Med Biol*. 2017; 1013:27-57.
7. Thein SL. Genetic insights into the clinical diversity of beta thalassaemia. *Br J Haematol*. 2004 Feb;124(3):264-74.
8. Higgs DR. The molecular basis of α -thalassemia. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013 Jan 1;3(1):a011718.
9. Gibbons R. Alpha thalassaemia-mental retardation, X linked. *Orphanet J Rare Dis*. 2006 May 4;1:15.
10. Olivieri NF, Pakbaz Z, Vichinsky E. Hb E/beta-thalassaemia: a common & clinically diverse disorder. *Indian J Med Res*. 2011 Oct;134:522-31.
11. Taher A, Vichinsky E, Musallam K y col. Guidelines for the Management of Non Transfusion Dependent Thalassemia (NTDT) [Internet]. Nicosia, Cyprus: Thalassemia International Federation; 2013.
12. Musallam KM, Rivella S, Vichinsky E y col. Non-transfusion-dependent thalassemias. *Haematologica*. 2013 Jun;98(6):833-44.
13. Viprakasit V, Ekwattanakit S. Clinical Classification, Screening and Diagnosis for Thalassemia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2018 Apr;32(2):193-211.
14. Mettananda S, Gibbons RJ, Higgs DR. α -Globin as a molecular target in the treatment of β -thalassemia. *Blood*. 2015 Jun 11; 125(24):3694-701.
15. Ribeil JA, Arlet JB, Dussiot M y col. Ineffective erythropoiesis in β -thalassemia. *Scientific World Journal*. 2013 Mar 28; 2013:394295.
16. Dussiot M, Maciel TT, Fricot A y col. An activin receptor IIA ligand trap corrects ineffective erythropoiesis in β -thalassemia. *Nat Med*. 2014 Apr;20(4):398-407.
17. Arlet JB, Ribeil JA, Guillem Fy col. HSP70 regulates ineffective erythropoiesis in beta-thalassaemia. *Med Sci (Paris)*. 2015 Jan;31(1):9-11.
18. Taher AT, Musallam KM, Saliba AN y col. Hemoglobin level and morbidity in non-transfusion-dependent thalassemia. *Blood Cells Mol Dis*. 2015 Aug;55(2):108-9.
19. Haidar R, Mhaidli H, Musallam KM y col. The spine in β -thalassemia syndromes. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2012 Feb 15;37(4):334-9.
20. Cappellini MD, Poggiali E, Taher AT y col. Hypercoagulability in β -thalassemia: a status quo. *Expert Rev Hematol*. 2012 Oct;5(5):505-11; quiz 512.
21. Musallam KM, Cappellini MD, Wood JC y col. Iron overload in non - transfusion-dependent thalassemia: a clinical perspective. *Blood Rev*. 2012 Apr;26 Suppl 1:S16-9.
22. Vichinsky EP. Clinical manifestations of α -thalassemia. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013 May 1;3(5):a011742.
23. Taher AT, Musallam KM, El-Beshlawy A y col. Age-related complications in treatment-naïve patients with thalassaemia intermedia. *Br J Haematol*. 2010 Aug;150(4):486-9.
24. Cappellini MD, Cohen A, Porter J y col. Guidelines for the Management of Transfusion Dependent Thalassemia, 3rd Edition (2014) Nicosia (CY): Thalassemia International Federation.
25. Cazzola M, De Stefano P, Ponchio L y col. Relationship between transfusion regimen and suppression of erythropoiesis in beta-thalassaemia major. *Br J Haematol*. 1995 Mar;89(3):473-8.
26. Rund D. Thalassemia 2016: Modern medicine battles an ancient disease. *Am J Hematol*. 2016 Jan;91(1):15-21.
27. Brissot P, Ropert M, Le Lan Cy col. Non-transferrin bound iron: a key role in iron overload and iron toxicity. *Biochim Biophys Acta*. 2012 Mar;1820(3):403-10.
28. Berdoukas V, Nord A, Carson Sy col. Tissue iron eval-

- uation in chronically transfused children shows significant levels of iron loading at a very young age. *Am J Hematol.* 2013 Nov;88(11): E283-5.
29. Borgna-Pignatti C, Meloni A, Guerrini G y col. Myocardial iron overload in thalassaemia major. How early to check? *Br J Haematol.* 2014 Feb;164(4):579-85.
 30. Wood JC, Origa R, Agus A y col. Onset of cardiac iron loading in pediatric patients with thalassemia major. *Haematologica.* 2008 Jun;93(6):917-20.
 31. Yang G, Liu R, Peng Py col. How early can myocardial iron overload occur in beta thalassemia major? *PLoS One.* 2014 Jan 22;9(1): e85379.
 32. Musallam KM, Cappellini MD, Daar S y col. Serum ferritin level and morbidity risk in transfusion-independent patients with β -thalassemia intermedia: the ORIENT study. *Haematologica.* 2014 Nov;99(11):e218-21.
 33. Voskaridou E, Ladis V, Kattamis A y col. A national registry of Haemoglobinopathies in Greece: deduced demographics, trends in mortality and affected births. *Ann Hematol.* 2012 Sep;91(9):1451-8.
 34. Lal A, Goldrich ML, Haines DA y col. Heterogeneity of hemoglobin H disease in childhood. *N Engl J Med.* 2011 Feb 24;364(8):710-8.
 35. Musallam KM, Taher AT, Karimi M y col. Cerebral infarction in β -thalassemia intermedia: breaking the silence. *Thromb Res.* 2012 Nov;130(5):695-702.
 36. Musallam KM, Cappellini MD, Taher AT. Evaluation of the 5mg/g liver iron concentration threshold and its association with morbidity in patients with β -thalassemia intermedia. *Blood Cells Mol Dis.* 2013 Jun;51(1):35-8.
 37. Musallam KM, Taher AT. Mechanisms of renal disease in β -thalassemia. *J Am Soc Nephrol.* 2012 Aug;23(8):1299-302.
 38. Aessopos A, Fragodimitri C, Karabatsos F y col. Cardiac magnetic resonance imaging R2* assessments and analysis of historical parameters in patients with transfusion-dependent thalassemia. *Haematologica.* 2007 Jan;92(1):131-2.
 39. Taher A, El Rassi F, Isma'eel H y col. Correlation of liver iron concentration determined by R2 magnetic resonance imaging with serum ferritin in patients with thalassemia intermedia. *Haematologica.* 2008 Oct;93(10):1584-6.
 40. Angelucci E, Brittenham GM, McLaren CE y col. Hepatic iron concentration and total body iron stores in thalassemia major. *N Engl J Med.* 2000 Aug 3;343(5):327-31.
 41. St Pierre TG, Clark PR, Chua-anusorn W y col. Non-invasive measurement and imaging of liver iron concentrations using proton magnetic resonance. *Blood.* 2005 Jan 15;105(2):855-61.
 42. Cappellini MD, Bejaoui M, Agaoglu L y col. Iron chelation with deferasirox in adult and pediatric patients with thalassemia major: efficacy and safety during 5 years' follow-up. *Blood.* 2011 Jul 28;118(4):884-93.
 43. Ben Salah N, Bou-Fakhredin R, Mellouli F y col. Revisiting beta thalassemia intermedia: past, present, and future prospects. *Hematology.* 2017 Dec;22(10):607-616.
 44. Taher AT, Porter JB, Viprakasit V y col. Deferasirox effectively reduces iron overload in non-transfusion-dependent thalassemia (NTDT) patients: 1-year extension results from the THALASSA study. *Ann Hematol.* 2013 Nov;92(11):1485-93.
 45. Taher AT, Cappellini MD, Aydinok Y y col. Optimising iron chelation therapy with deferasirox for non-transfusion-dependent thalassaemia patients: 1-year results from the THETIS study. *Blood Cells Mol Dis.* 2016 Mar;57:23-9.
 46. Taher AT, Cappellini MD. How I manage medical complications of β -thalassemia in adults. *Blood.* 2018 Oct 25;132(17):1781-1791.
 47. Delea TE, Edelsberg J, Sofrygin O y col. Consequences and costs of noncompliance with iron chelation therapy in patients with transfusion-dependent thalassemia: a literature review. *Transfusion.* 2007 Oct;47(10):1919-29.



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.

Métodos diagnósticos para leucemias linfoblásticas B con perfil *Ph-like* (LLA *Ph-like*)

Diagnostic methods for B-lymphoblastic leukemia with Ph-like profile (Ph-like ALL)

Lang CA

Laboratorio de Especialidades Bioquímicas (LEB) - Bahía Blanca.

citogenetica@leblaboratorio.com.ar



ACTUALIZACIÓN
EN LLA

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 93-99
Octubre 2019

Palabras claves: leucemia linfoblástica aguda, *Ph-like*, diagnóstico.

Keywords: acute lymphoblastic leukemia, *Ph-like*, diagnosis.

Introducción

La leucemia linfoblástica aguda *Ph-like* (LLA *Ph-like*), también denominada BCR-ABL1-*like*, es un subtipo de LLA de alto riesgo que presenta un perfil de expresión génica similar a la LLA Ph+, aunque sin la presencia del rearreglo BCR-ABL1, asociada a pronóstico adverso en todos los grupos etarios. Fue reconocida como entidad provisional en la edición 2016 de la Clasificación de Neoplasias Mieloides y Leucemias Agudas de la Organización Mundial de la Salud (OMS)⁽²⁾. El diagnóstico es complejo y actualmente no existe un estándar. Originalmente fue definida por el perfil de expresión génica basada en la técnica de *microarray*^(13,14), pero debido a que es un método difícil de implementar en la práctica diaria, se establecieron enfoques alternativos: inmunofenotipificación, FISH, MLPA, secuenciación de ADN, etc. La detección de las LLA con perfil *Ph-like* es importante por estar asociadas a peor pronóstico y porque algunas de las alteraciones podrían ser utilizadas como blanco terapéutico⁽¹⁾.

Identificación inicial de las LLA *Ph-like*

En 2009 dos grupos de investigación (Mullighan y colaboradores (*Children's Oncology Group* (COG) y *St. Jude Children's Research Hospital* (SJCRH)) y den Boer y colaboradores (Holanda)) describen un nuevo subtipo de LLA que se denominaría en adelante *Ph-like* o BCR-ABL1-*like* (en la definición holandesa), y que se caracterizaba por presentar un perfil de expresión génica muy similar a las LLA Ph+, con alta frecuencia de deleciones de *IKZF1* y otros genes de factores de transcripción linfoides, y pronóstico adverso^(11,12). La definición de LLA *Ph-like* y BCR-ABL1-*like* no es exactamente igual entre ambos grupos, probablemente debido a diferencias en el enfoque analítico y a que COG/SJCRH ha refinado y optimizado sus modelos de identificación a través de los años.

Alteraciones moleculares en LLA *Ph-like*

Las LLA *Ph-like* presentan alteraciones génicas que pueden ser divididas en: 1) fusiones del tipo ABL, que provocan desregulación de kinasas (*PDGFRB*,

ABL1, *ABL2*, *CSF1R*) y podrían responder a los inhibidores de tirosina kinasas (ITK); y 2) alteraciones que activan las vías de señalización de JAK/STAT a través de receptores de citoquinas (*CRLF2*, *EPOR*, *JAK*, *RAS*) y podrían responder a inhibidores de JAK (Figura 1). El perfil *Ph-like* casi siempre es excluyente con la presencia de alteraciones genéticas recurrentes y que definen pronóstico en LLA como los rearrreglos *BCR-ABL1*, *ETV6-RUNX1*, *TCF3-PBX1*, *KMT2A* (MLL) y la presencia de hiperdiploidía alta⁽¹²⁾. En muchos casos se asocian a deleciones o mutaciones en otros genes importantes involucrados en el proceso leucemogénico, incluyendo *IKZF1* y *CDKN2A/B*^(5,11), aunque *IKZF1* en particular no es lo suficientemente específico para este grupo de leucemias como para ser incluido dentro de la definición de *Ph like*⁽²⁾.

Rearreglos de *CRLF2* y mutaciones de *JAK*

Aproximadamente la mitad de las LLA-*Ph like* presentan algún rearrreglo que involucra al gen *CRLF2*, ubicado en la región pseudoautosómica 1 (PAR1) de los cromosomas Xp22/Yp11, resultando en la sobreexpresión del gen (Figura 2). Los rearrreglos pueden darse de tres formas distintas: 1) deleción intersticial de *PAR1*, que une a *CRLF2* con el primer exón no codificante del gen *P2RY8*; 2) translocaciones con el gen de la cadena pesada de inmunoglo-

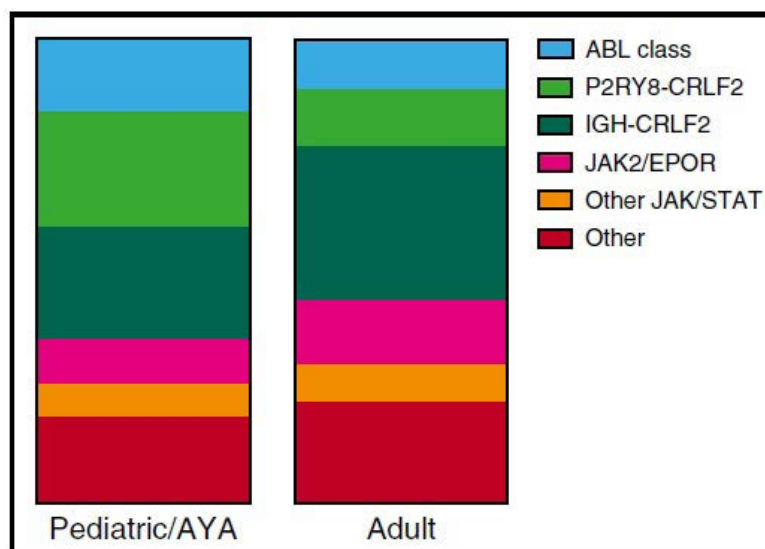
bulina (*IGH*) en 14q32; 3) mutaciones puntuales de *CRLF2* *F232C*, generalmente asociada a rearrreglos del gen^(3,4). También se han reportado fusiones entre *CRLF2* y *CSF2RA* (otro gen de la región *PAR1*).

La fusión *P2RY8-CRLF2* puede ser identificada por reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR), mientras que *IGH-CRLF2* requiere de la técnica de hibridación fluorescente *in situ* (FISH) para su detección. El tipo de rearrreglo de *CRLF2* se asocia a las características clínicas y étnicas de los pacientes: *P2RY8-CRLF2* se asocia a pacientes más jóvenes (más frecuente en los niños) y menor recuento de leucocitos que *IGH-CRLF2*^(16,17), mientras que éste último se asocia al origen hispánico⁽¹⁸⁾. Las mutaciones puntuales (activantes) de *JAK1* y *JAK2* ocurren aproximadamente en la mitad de las LLA con rearrreglos de *CRLF2*, siendo la más común la R683G en el dominio pseudoquinasa de *JAK2*. Los rearrreglos de *CRLF2* y las mutaciones de *JAK1/JAK2* son más frecuentes en niños con LLA asociada a síndrome de Down (30% a 50%, comparado con 5% a 10% en el resto de las LLA pediátricas)⁽¹⁵⁾.

Alteraciones que provocan activación de la vía JAK-STAT (*JAK2*, *EPOR*)

Las translocaciones o deleciones intersticiales que generan genes de fusión y proteínas quiméricas de *JAK2* también son alteraciones recurrentes en LLA

Figura 1. Incidencia de alteraciones genéticas en niños/AYA y en adultos con leucemia linfoblástica B *Ph-like* (Adaptado de Tasian et al. 2017). AYA: adolescentes y adultos jóvenes.



Ph-like, y producen activación de la vía de señalización JAK-STAT. La frecuencia aproximada es de 5% en las LLA Ph-like pediátricas y más frecuente en los adultos jóvenes^(5,6). Los rearrreglos de EPOR se dan en alrededor del 1% de todas las LLA-B^(7,8,19) y pueden involucrar en el rearrreglo a 4 o más genes (*IGH*, *IGK*, *LAIR1* y *THADA*).

Fusiones del tipo ABL

Estos rearrreglos incluyen las translocaciones y deleciones o inversiones intracromosomales de *ABL1*, *ABL2*, *CSF1R* y *PDGFRB*^(5,6,9,10), y ocurren en 3- 5% de las LLA pediátricas y 2-3% de los adultos^(13,14). De forma análoga al *BCR-ABL1*, las fusiones de tipo *ABL* son sensibles al imatinib y dasatinib que actúan sobre los dominios TK estructuralmente homólogos^(5,6).

Identificación de LLA Ph-like

El grupo de investigadores de COG/SJCRH identificaron un grupo de 8 genes que pueden definir el perfil Ph like, y pueden ser analizados rápidamente a través de un *microarray* (384-well low density *microarray* (LDA))⁽¹³⁾. Los genes estudiados por LDA fueron: *JCHAIN*, *SPATS2L*, *CA6*, *NRXN3*, *MUC4*, *CRLF2*, *ADGRF1* y *BMPR1B*. El análisis de estos genes resulta en un valor integrado que va de 0 a 1 (coeficiente Ph-like). El coeficiente por encima de 0.5 corresponde al grupo de LLA con perfil Ph-like.

Los pacientes con expresión elevada de *CRLF2* fueron estudiados posteriormente para los rearrreglos *P2RY8-CRLF2* por PCR, e *IGH-CRFL2* por FISH, y también se evaluaron en ellos la presencia de mutaciones de *JAK1* y *JAK2* por secuenciación (método de Sanger). Los pacientes que dieron negativos para todos los anteriores y los que presentaron baja expresión de *CRLF2* se estudiaron por *RT-PCR multiplex o singleplex* para la identificación de fusiones de otras quinasas (*ABL1*, *ABL2*, *CSF1R*, *JAK2*, *NTRK3* y *PDGFRB*) (Figura 3).

Reshmi et al. seleccionaron para el estudio pacientes con LLA-B clasificados como: alto riesgo de acuerdo a NCI (≥ 10 años, leucocitosis $\geq 50.000/uL$), y riesgo estándar (< 10 años, leucocitosis $< 50.000/uL$) con infiltración de SNC o testicular, pre-tratamiento con esteroides, o ERM $\geq 0.01\%$ al final de la inducción. Mediante este algoritmo hallaron 20.4% de pacientes entre 0 y 30 años con perfil Ph-like. De 54,6% que presentaron expresión elevada de *CRLF2*, en 43.7% se identificaron rearrreglos de *CRLF2* con una prevalencia similar de *P2RY8-CRLF2* e *IGH-CRLF2* (22.2% y 21.5%), y en 50.8% la presencia de mutaciones concomitantes activadoras de la vía de JAK-STAT (*JAK1*, *JAK2* o *IL7R*). Entre los pacientes restantes (que no mostraron rearrreglos de *CRLF2*) se detectaron: rearrreglos de genes del tipo ABL (*ABL1*, *ABL2*, *CSF1R*, y *PD-*

Figura 2. Rearreglos de *CRLF2* en LLA Ph-like. (A) delección intersticial de la región pseudoautosómica (PAR1)); (B) fusión *IGH-CRLF2*. Ambos rearrreglos resultan en sobreexpresión de *CRLF2* y aumento de la expresión proteica detectable por citometría de flujo. (C) mutación puntual de *CRLF2* (Adaptado de Tasian et al. 2017).

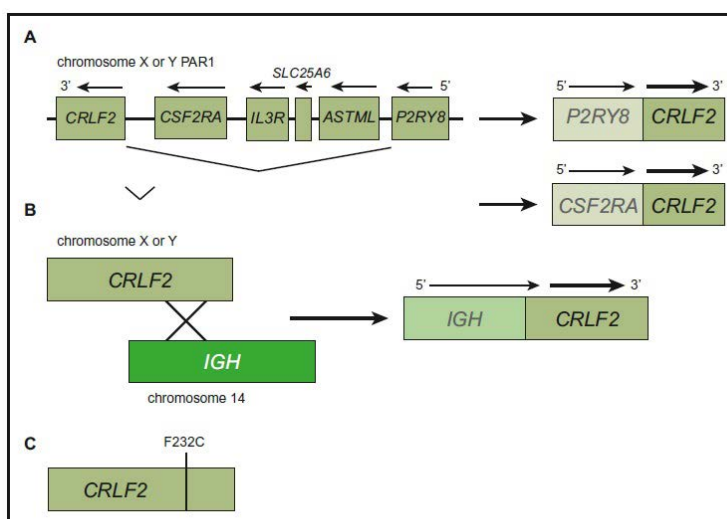
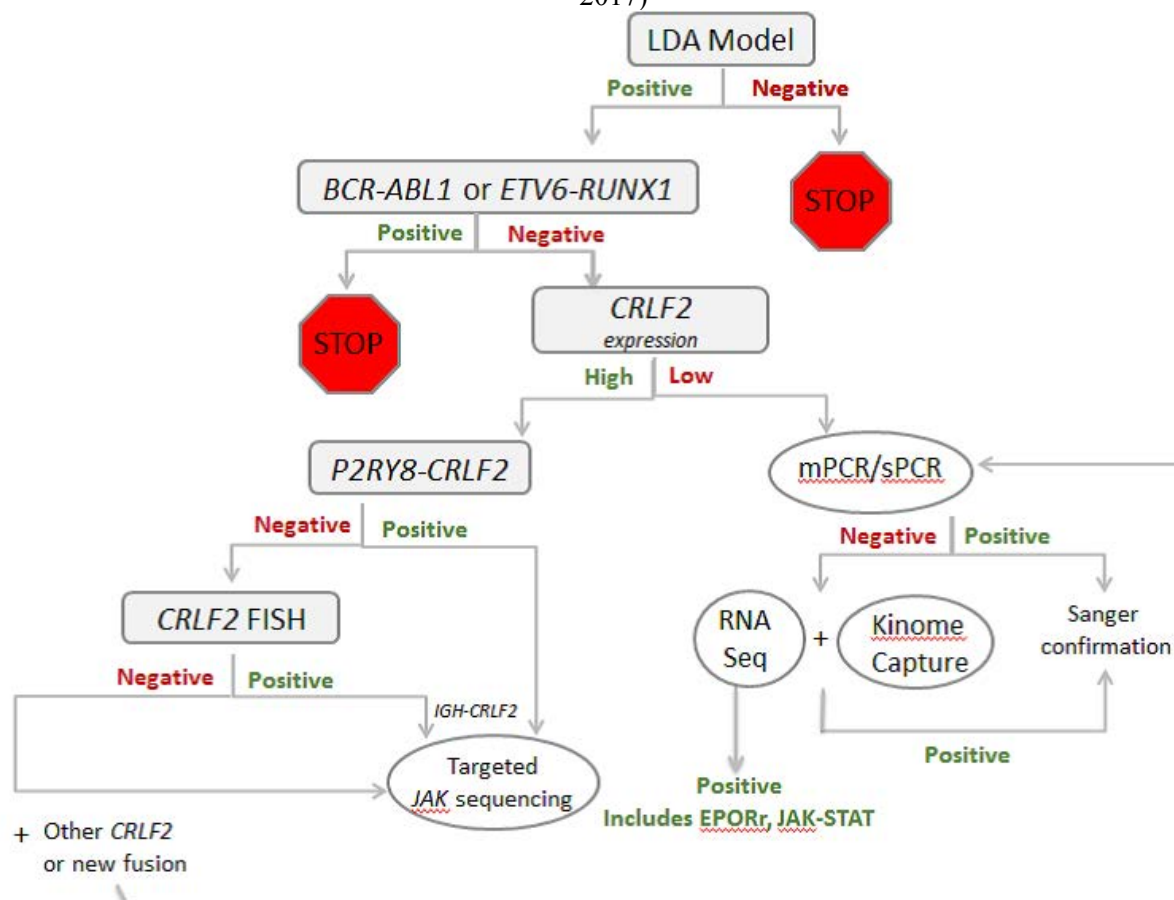


Figura 3. Algoritmo diagnóstico para la identificación del perfil Ph-like en LLA (Tomado de Reshmi 2017)



(*GFRB*) en 14.1%, fusiones de *JAK2* o rearrreglos de *EPOR* en 8.8%, alteraciones de otros genes de señalización JAK-STAT (*IL7R*, *SHSB3*, *JAK1*) y otras quinasas (*FLT3*, *NTRK3*, *LYN*) en 10.9%, y mutaciones que involucran a la vía de Ras (*KRAS*, *NRAS*, *NF1*, *PTPN11*) en 6%. En el total de pacientes con perfil Ph-like, 83,5% presentó alguna alteración genética produciendo activación de quinasas o de las vías de señalización de receptores de quinasas. Observaron en el grupo Ph-like una mayor proporción de pacientes mayores de 10 años (25.8% vs. 16.7%; $p<.0001$), y mayores recuentos de leucocitos tomando como puntos de corte: $50 \times 10^9/L$ (40.5% vs 30.4%; $p<.001$), $100 \times 10^9/L$ (24.3% vs 13.8%; $p<.001$), y $200 \times 10^9/L$ (8.5% vs 5.4%; $p=.049$).

Roberts et al. proponen un algoritmo similar para pacientes mayores de 21 años (entre 21 y 86 años) (Figura 4) ¹⁴. En este grupo hallaron 24.3% de pacientes con LLA *Ph-like*, distribuidos de acuerdo a la edad: 27.9% en AYA (21-39 años), 20.4% en adultos (40-59 años), y 24.0% en adultos mayores (60-

86 años). De los pacientes con perfil *Ph-like*, 88.1% presentaron alguna alteración genética produciendo activación de quinasas, y 51% expresión elevada de *CRLF2* (51.1% del grupo AYA, 46.8% de los adultos, y 58.4% de los adultos mayores) identificándose los rearrreglos *IGH-CRLF2* en 57.6% y *P2RY8-CRLF2* en 21.2%. La presencia de mutaciones concomitantes activadoras de la vía de JAK-STAT fue hallada en 25% de los pacientes con expresión elevada de *CRLF2*. Entre los pacientes que no mostraron rearrreglos de *CRLF2* se detectaron: rearrreglos de genes del tipo ABL en 9.8%, fusiones de *JAK2* o rearrreglos de *EPOR* en 12.4%, alteraciones de otros genes de señalización JAK-STAT y otras quinasas en 11.3%, y mutaciones que involucran a la vía de Ras (*KRAS*, *NRAS*, *NF1*, *PTPN11*) en 3.6%.

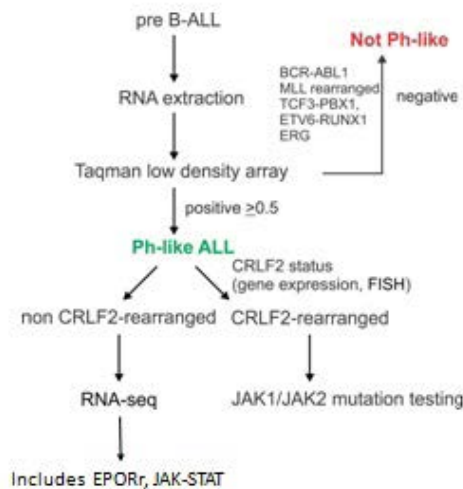
La sobrevida libre de progresión (SLP) como así también la sobrevida global (SG) fueron inferiores en el grupo Ph-like comparado con el no Ph-like (excluyendo *BCR-ABL1* + y *KMT2A*+) para los grupos AYA y adultos, no así para los adultos mayores (pro-

bablemente debido al menor número de pacientes evaluables en este grupo). El tipo de alteración genética hallada también demostró impactar en la SLP y SG, siendo inferior para los pacientes con rearrreglos de *CRLF2* y *JAK2/EPOR* en comparación con

los que presentaban rearrreglos del tipo ABL u otras alteraciones de la vía JAK-STAT. (Figura 5 y 6).

En conclusión, la frecuencia del perfil Ph-like excede el 20% en los grupos de pacientes pediátricos/AYA de alto riesgo y en el total de los pacientes adultos

Figura 4. Algoritmo diagnóstico para la identificación del perfil Ph-like en LLA



Adaptado de Roberts et al. 2017

Figura 5. Análisis del SLP y SG en pacientes jóvenes adultos, adultos y adultos mayores con LLA Ph-like. (Tomado de Roberts et al. 2017).

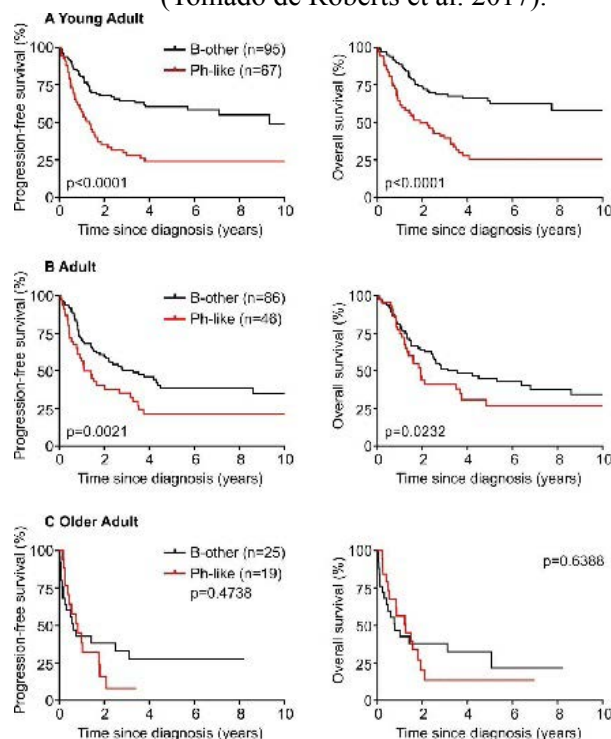
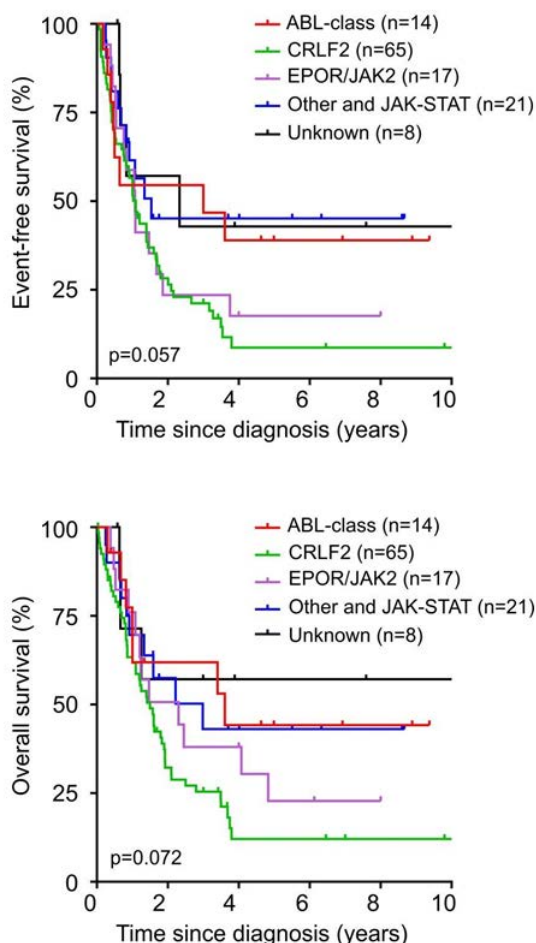


Figura 6. Análisis del SLP y SG entre diferentes subgrupos de LLA Ph-like (Tomado de Roberts et al. 2017)



con LLA-B, y se asocia a pronóstico adverso, independientemente del protocolo de tratamiento utilizado. El espectro de alteraciones identificadas hasta el momento es similar en todos los grupos etarios, y en muchos casos podrían responder al tratamiento con inhibidores de tirosina quinasas o de JAK. Actualmente el perfil de expresión génica Ph-like es útil desde el punto de vista del diagnóstico de LLA, siendo cada vez más relevante su importancia para la aplicación de medicina de precisión⁽¹⁾.

Situación actual para la identificación de LLA Ph-like en Argentina

Aunque los algoritmos propuestos por los grupos internacionales no son aplicables aún en nuestro

país, están disponibles y en desarrollo distintos estudios que permiten una aproximación diagnóstica para las LLA con perfil Ph-like. Entre las técnicas de estudio actualmente accesibles se encuentran: la detección de sobreexpresión proteica de CRLF2 por citometría de flujo (método de tamizaje que debería ser incluido en los paneles del estudio diagnóstico de LLA); detección de rearrreglos de *CRLF2*, *ABL1*, *ABL2*, y *PDGFRB* por FISH; detección de alteraciones del número de copias (CNA) de *IKZF1* y otros genes por MLPA; y detección del rearrreglo *P2RY8-CRLF2* por RT-PCR. A través de la identificación de alteraciones asociadas a LLA Ph-like con blancos terapéuticos específicos es posible ofrecer tratamientos más efectivos, sobre todo en los pacientes adultos.

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

Bibliografía

1. Tasian SK, Mignon LL, Hunger SP. Philadelphia chromosome-like acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2017;130(19):2064-2072.
2. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391-2405.
3. Mullighan CG, Collins-Underwood JR, Phillips LA et al. Rearrangement of CRLF2 in B-progenitor- and Down syndrome-associated acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet*. 2009a; 41:1243-1246.
4. Shapiro E, Russell L, Lainey E et al. Activating mutation in the TSLPR gene in B-cell precursor lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 2010; 24:642-645.
5. Roberts KG, Li Y, Payne-Turner D et al. Targetable kinase-activating lesions in Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*. 2014;371(11):1005-1015.
6. Roberts KG, Morin RD, Zhang J et al. Genetic alterations activating kinase and cytokine receptor signaling in high-risk acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Cell*. 2012;22(2):153-166.
7. Tasian SK, Doral MY, Borowitz MJ et al. Aberrant STAT5 and PI3K/mTOR pathway signaling occurs in human CRLF2-rearranged B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2012;120(4):833-842.
8. Tasian SK, Teachey DT, Li Y et al. Potent efficacy of combined PI3K/mTOR and JAK or ABL inhibition in murine xenograft models of Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2017;129(2):177-187.
9. Boer JM, Marchante JR, Evans WE et al. BCRABL1-like cases in pediatric acute lymphoblastic leukemia: a comparison between DCOG/Erasmus MC and COG/St. Jude signatures. *Haematologica*. 2015;100(9):e354-e357.
10. Boer JM, Steeghs EM, Marchante JR et al. Tyrosine kinase fusion genes in pediatric BCRABL1-like acute lymphoblastic leukemia. *Oncotarget*. 2017;8(3):4618-4628.
11. Mullighan CG, Su X, Zhang J et al. Children's Oncology Group. Deletion of IKZF1 and prognosis in acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*. 2009;360(5):470-480.
12. Den Boer ML, van Slegtenhorst M, De Menezes RX et al. A subtype of childhood acute lymphoblastic leukaemia with poor treatment outcome: a genome-wide classification study. *Lancet Oncol*. 2009;10(2):125-134.
13. Reshmi SC, Harvey RC, Roberts KG et al. Targetable kinase gene fusions in high-risk B-ALL: a study from the Children's Oncology Group. *Blood*. 2017;129(25):3352-3361.
14. Roberts KG, Gu Z, Payne-Turner D et al. High frequency and poor outcome of Philadelphia chromosome-like acute lymphoblastic leukemia in adults. *J Clin Oncol*. 2017;35(4):394-401.
15. Hertzberg L, Vendramini E, Ganmore I et al. Down syndrome acute lymphoblastic leukemia, a highly heterogeneous disease in which aberrant expression of CRLF2 is associated with mutated JAK2: a report from the International BFM Study Group. *Blood*. 2010;115(5):1006-1017.
16. Moorman AV, Schwab C, Ensor HM et al. IGH@ translocations, CRLF2 deregulation, and microdeletions in adolescents and adults with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol*. 2012; 30(25):3100-3108.
17. Jain N, Roberts KG, Jabbour E et al. Ph-like acute lymphoblastic leukemia: a high-risk subtype in adults. *Blood*. 2017;129(5):572-581.
18. Harvey RC, Mullighan CG, Chen IM et al. Rearrangement of CRLF2 is associated with mutation of JAK kinases, alteration of IKZF1, Hispanic/Latino ethnicity, and a poor outcome in pediatric B-progenitor acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2010;115(26):5312-5321.
19. Maude SL, Tasian SK, Vincent T et al. Targeting JAK1/2 and mTOR in murine xenograft models of Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2012;120(17):3510-3518.



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.

Actualización en trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en leucemia linfoblástica aguda en adultos

Update in stem cell transplantation in adults patients with acute lymphoblastic leukemia

Basquiera AL

Hospital Italiano de Buenos Aires

ana.basquiera@hospitalitaliano.org.ar



**ACTUALIZACIÓN
EN LLA**

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 100-105
Octubre 2019

Palabras claves: trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, adultos, leucemia linfoblástica aguda.

Keywords: stem cell transplantation, adults, acute lymphoblastic leukemia.

Introducción

El trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas (alo-TCPH) es considerado una herramienta terapéutica importante como terapia pos-remisión de los pacientes adultos con leucemia linfoblástica aguda (LLA)⁽¹⁾. Un estudio reciente del grupo europeo de trasplante (EBMT; por *European Bone Marrow Transplantation*) mostró un incremento de un 136% en los últimos años para los alo-TCPH realizados en adultos con LLA en primera remisión completa (IRC), sobre todo para los trasplantes con donantes no emparentados (DNE) (272%) y donantes emparentados parcialmente idénticos (haploID) (339%); por su parte, el número de alo-TCPH con donantes emparentados HLA-idénticos (HLA-ID) se incrementó un 42%. Globalmente, los autores concluyeron que esta tendencia al aumento de tras-

plantes alogénicos para pacientes con LLA se debió a la mayor disponibilidad de DNE y haploID, al mayor uso de acondicionamientos de intensidad reducida y la mayor eficacia de la terapia pre-trasplante, incluyendo los inhibidores tirosina-kinasa para pacientes con LLA Phi+⁽¹⁾.

Los resultados con alo-TCPH en LLA en IRC presentaron mejoría a lo largo de los años, tanto en donante emparentado como no emparentado. En un análisis del EBMT, sobre 2681 pacientes que recibieron un alo-TCPH con donante emparentado HLA-ID, las probabilidades de supervivencia a dos años fueron de 76% (18-25 años), 69% (26-35 y 36-45 años) y 60% (46-65 años); y entre 2178 pacientes con DNE, las probabilidades respectivas fueron 66%, 70%, 61% y 62%. Estas estimaciones son significativamente superiores a las informadas para

años anteriores, demostrando avances considerables en los resultados de trasplante⁽²⁾.

Por otro lado, en los últimos años, se observó un progreso importante en el tratamiento de LLA del adulto: la utilización de quimioterapia basada en regímenes pediátricos, el uso de la enfermedad mínima residual para guiar el tratamiento (EMR) y la aparición de nuevos tratamientos fuera de la quimioterapia convencional. Estos hitos en el tratamiento de la LLA han reubicado el rol del alo-TCPH en los distintos escenarios clínicos.

Trasplante en LLA en primera remisión completa

La evidencia a favor del alo-TCPH en LLA en IRC proviene de estudios comparando la estrategia donante versus no donante, basados en la disponibilidad de un donante familiar HLA-ID comparado a quimioterapia o trasplante autólogo, demostrando con alo-TCPH mejor sobrevida libre de leucemia (SLL) en los grupos de riesgo alto^(3,4) y mejor sobrevida global (SG) y reducción del riesgo de recaída en pacientes con riesgo estándar^(5,6). Sin embargo, con el mismo abordaje de donante vs. no donante, Ribera y col. no encontraron beneficio en el grupo de riesgo alto⁽⁷⁾. Al menos cuatro meta-análisis resumieron la evidencia disponible. Yanada y col. incluyeron siete estudios y encontraron que el alo-TCPH ofreció beneficio en SG en pacientes de riesgo alto⁽⁸⁾; mientras que Ram y col. demostraron beneficio del alo-TCPH en SG, sobre todo en el grupo de riesgo estándar⁽⁹⁾. Gupta y col. analizaron datos de pacientes individuales de 13 estudios, incluyendo un total de 2962 pacientes, excluyendo pacientes con LLA Filadelfia positiva; los autores concluyeron que el alo-TCPH con un donante familiar idéntico mejoró la SG en pacientes menores de 35 años⁽¹⁰⁾. Pidala y col. analizaron 14 estudios, incluyendo alo-TCPH con donante familiar idéntico y acondicionamientos mieloablativos, demostrando mejoría en SG, SLL y reducción de la recaída con alo-TCPH⁽¹¹⁾. Globalmente, la reducción del riesgo de recaída con alo-TCPH fue del 40-50%⁽¹⁰⁾. Ninguno de estos estudios encontró beneficio del trasplante autólogo en LLA de adulto.

El advenimiento de los DNE y los haploID expandió la posibilidad de realizar alo-TCPH como terapia pos-remisión. En cuanto al DNE compatible (al menos 8/8), varios estudios retrospectivos muestra-

ron igual sobrevida comparado al donante familiar idéntico⁽¹²⁻¹⁵⁾, aun en adultos mayores de 60 años⁽¹⁶⁾. La presencia de disparidades en el HLA en los DNE podría asociarse con mayor mortalidad^(2,14,15).

En el campo del haploID, usando la estrategia clásica de randomización si posee donante familiar idéntico, pero en este caso comparado con haploID, Wang y col. no encontraron diferencias en los resultados de trasplante para pacientes con LLA de alto riesgo Filadelfia negativa en IRC, con ambos tipo de donantes⁽¹⁷⁾. En este estudio se utilizó una estrategia de profilaxis de enfermedad injerto versus huésped basada en globulina anti-timocito. Dos estudios retrospectivos analizaron los resultados de haploID en pacientes con LLA usando ciclofosfámid pos-trasplante, obteniendo resultados similares. Santoro y col. en un estudio de 206 pacientes del EBMT, informaron una SG a 3 años de 52% para pacientes en IRC⁽¹⁸⁾. Srouf y col. analizaron los resultados de 106 pacientes de cinco instituciones en Estados Unidos; los autores encontraron una SLL a 3 años de 52%⁽¹⁹⁾. El Grupo Argentino de Trasplante (GATMO) analizó el resultado de trasplante en LLA del adulto comparando la utilización de donantes bien compatibles (tanto familiares como no emparentados) con haploID y no se encontraron diferencias en término de sobrevida, recaída y mortalidad no relacionada a recaída⁽²⁰⁾. Finalmente, un análisis del EBMT sobre 1234 adultos con LLA en IRC, no encontró diferencias en los resultados de trasplante con haploID *versus* DNE⁽²¹⁾.

Trasplante en LLA Filadelfia positiva

El uso de inhibidores de tirosina quinasa con la quimioterapia permitió aumentar la tasa de remisiones completas y que un 45-80% de los pacientes en remisión hematológica alcancen el trasplante⁽²²⁾. Varios autores informaron una sobrevida con trasplante de 60-70%⁽²³⁻²⁸⁾. Wang y col. compararon los resultados de 77 pacientes que recibieron alo-TCPH luego de alcanzar RC con quimioterapia e imatinib versus 57 pacientes que continuaron con quimioterapia e imatinib, y encontraron ventaja en sobrevida para los que recibieron alo-TCPH⁽²⁹⁾. La mortalidad relacionada al trasplante, sobre todo en pacientes mayores y los menores resultados del alo-TCPH en pacientes portadores de mutaciones de peor pronóstico, ha generado controversia sobre la indicación de trasplante en IRC, sobre todo en pacientes que

logran EMR negativa temprana⁽³⁰⁾. Sin embargo, el Alo-TPCH en pacientes con LLA Filadelfia positiva en IRC es el tratamiento de estándar y su no indicación o postergación es actualmente un área de investigación⁽³¹⁾.

Trasplante vs. quimioterapia en adultos jóvenes

Si bien el alo-TPCH ha demostrado beneficio en sobrevida como estrategia pos-remisión en LLA en IRC, este beneficio podría no ser el mismo en el grupo de adolescentes y adultos jóvenes (entre 18 y 39 años)⁽³²⁾. Ello podría deberse a los buenos resultados obtenidos con la quimioterapia basada en protocolos pediátricos adoptada por varios grupos cooperativos (PETHEMA, CALGB, GMALL, GRAALL)^(31,33,34). En el estudio prospectivo CALGB 10403, 295 pacientes de 17 a 39 años con LLA recibieron tratamiento con un protocolo pediátrico, alcanzando una mediana de SLL de 78,1 meses y una SG estimada a 3 años de 73%, que fueron significativamente mejor a las respectivas estimaciones alcanzada por controles históricos⁽³⁴⁾.

La estrategia de trasplante basada en la EMR

Tradicionalmente el alo-TPCH se ofreció a pacientes con factores de riesgo de mal pronóstico al momento del diagnóstico como la edad, el citogenético y el recuento de glóbulos blancos⁽³⁵⁾. Varios grupos cooperativos basaron su recomendación de trasplante en uno o más de estos factores. Sin embargo, la respuesta al tratamiento medida por la EMR, progresivamente se reconoció como el factor más poderoso y dinámico para establecer pronóstico en LLA^(33,36,37). La EMR ha sido adoptada en la práctica clínica, tanto para LLA Filadelfia negativa como Filadelfia positiva, aunque el mejor momento para definir su impacto pronóstico es variable entre los distintos grupos⁽³⁸⁾. En el contexto del alo-TPCH, la presencia de EMR positiva previa al trasplante es un factor asociado con sobrevida inferior⁽³⁹⁻⁴²⁾, sin embargo, el alo-TPCH podría contrarrestar el pobre impacto de la EMR positiva según los datos del

GRAALL^(33,37). Para LLA-B, se podría considerar el uso de blinatumomab para reducir la EMR⁽³¹⁾. Otra implicancia de la EMR positiva pre-trasplante es la recomendación de realizar acondicionamiento mieloablativo⁽³¹⁾.

En el contexto del pos-trasplante, el seguimiento con EMR es útil para predecir recaída^(41,43) e identificar rápidamente pacientes que requieren reducción de la inmunosupresión, tratamiento con drogas o terapia celular.

Trasplante en LLA en segunda remisión completa o posteriores

El trasplante es considerado estándar en pacientes con LLA en 2RC o remisiones posteriores, aun cuando los resultados son inferiores a los logrados en pacientes en IRC⁽⁴³⁾. En el estudio del GATMO, los pacientes en 2RC alcanzaron una SG a dos años de 41% vs. 65% para pacientes en IRC⁽²⁰⁾. Además, el estado de la enfermedad al momento del trasplante fue un factor significativo independiente de mayor mortalidad no relacionada a recaída, inferior sobrevida libre de leucemia e inferior sobrevida global⁽²⁰⁾.

Conclusiones

El tratamiento de la LLA del adulto debe seguir protocolos establecidos de tratamiento. Todos los pacientes elegibles para trasplante deben tener identificado un donante tempranamente en el curso de la enfermedad. La indicación de alo-TPCH en pacientes en IRC es un área de investigación activa. La presencia de EMR positiva durante el tratamiento identifica un grupo de pacientes con resistencia a la quimioterapia que deben ser considerados para alo-TPCH. Los resultados en Argentina son comparables a los informados por series europeas y al momento actual, tanto los donantes familiares como los no emparentados, constituyen alternativas válidas con iguales resultados en términos de mortalidad y recaída.

Conflictos de interés: La autora declara haber recibido honorarios por parte de Amgen por concepto de conferencias en las que ha participado.

Bibliografía

1. Kourlaba G, Relakis J, Kontodimas S y col. A systematic review of the use of hematopoietic stem cell transplantation for adults with acute lymphoblastic leukemia in Europe: a report from the Acute Leukemia Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Ann Hematol*. 2019; doi:10.1007/s00277-019-03771-2.
2. Giebel S, Labopin M, Socié G y col. Improving results of allogeneic hematopoietic cell transplantation for adults with acute lymphoblastic leukemia in first complete remission: an analysis from the Acute Leukemia Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Haematologica*. 2017;102: 139-149.
3. Thomas X, Boiron J-M, Huguet F y col. Outcome of treatment in adults with acute lymphoblastic leukemia: analysis of the LALA-94 trial. *J Clin Oncol*. 2004;22: 4075-4086.
4. Sebban C, Lepage E, Vernant JP y col. Allogeneic bone marrow transplantation in adult acute lymphoblastic leukemia in first complete remission: a comparative study. French Group of Therapy of Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol*. 1994;12: 2580-2587.
5. Goldstone AH, Richards SM, Lazarus HM y col. In adults with standard-risk acute lymphoblastic leukemia, the greatest benefit is achieved from a matched sibling allogeneic transplantation in first complete remission, and an autologous transplantation is less effective than conventional consolidation/maintenance chemotherapy in all patients: final results of the International ALL Trial (MRC UKALL XII/ECOG E2993). *Blood*. 2008;111: 1827-1833.
6. Cornelissen JJ, van der Holt B, Verhoef GEG y col. Myeloablative allogeneic versus autologous stem cell transplantation in adult patients with acute lymphoblastic leukemia in first remission: a prospective sibling donor versus no-donor comparison. *Blood*. 2009;113: 1375-1382.
7. Ribera J-M, Ortega J-J, Oriol A y col. Comparison of intensive chemotherapy, allogeneic, or autologous stem-cell transplantation as postremission treatment for children with very high risk acute lymphoblastic leukemia: PETHEMA ALL-93 Trial. *J Clin Oncol*. 2007;25: 16-24.
8. Yanada M, Matsuo K, Suzuki T, Naoe T. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation as part of postremission therapy improves survival for adult patients with high-risk acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis. *Cancer*. 2006;106: 2657-2663.
9. Ram R, Gafter-Gvili A, Vidal L y col. Management of adult patients with acute lymphoblastic leukemia in first complete remission: systematic review and meta-analysis. *Cancer*. 2010;116: 3447-3457.
10. Gupta V, Richards S, Rowe J, on behalf of the Acute Leukemia Stem Cell Transplantation Trialists' Collaborative Group. Allogeneic, but not autologous, hematopoietic cell transplantation improves survival only among younger adults with acute lymphoblastic leukemia in first remission: an individual patient data meta-analysis. *Blood*. 2013;121:339-350.
11. Pidala J, Djulbegovic B, Anasetti C, Kharfan-Dabaja M, Kumar A. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult acute lymphoblastic leukemia (ALL) in first complete remission. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011; CD008818.
12. Kiehl MG, Kraut L, Schwerdtfeger R y col. Outcome of allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation in adult patients with acute lymphoblastic leukemia: no difference in related compared with unrelated transplant in first complete remission. *J Clin Oncol*. 2004;22: 2816-2825.
13. Tomblyn MB, Arora M, Baker KS y col. Myeloablative hematopoietic cell transplantation for acute lymphoblastic leukemia: analysis of graft sources and long-term outcome. *J Clin Oncol*. 2009;27: 3634-3641.
14. Segal E, Martens M, Wang H-L y col. Comparing outcomes of matched related donor and matched unrelated donor hematopoietic cell transplants in adults with B-Cell acute lymphoblastic leukemia. *Cancer*. 2017;123: 3346-3355.
15. Nishiwaki S, Miyamura K, Ohashi K y col. Impact of a donor source on adult Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia: a retrospective analysis from the Adult Acute Lymphoblastic Leukemia Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Ann Oncol*. 2013;24:1594-1602.
16. Roth-Guepin G, Canaani J, Ruggeri A y col. Allogeneic stem cell transplantation in acute lymphoblastic leukemia patients older than 60 years: a survey from the acute leukemia working party of EBMT. *Oncotarget*. 2017;8: 112972-112979.
17. Wang Y, Liu Q-F, Xu L-P y col. haploIDential versus Matched-Sibling Transplant in Adults with Philadelphia-Negative High-Risk Acute Lymphoblastic Leukemia: A Biologically Phase III Randomized Study. *Clin Cancer Res*. 2016;22: 3467-3476.
18. Santoro N, Ruggeri A, Labopin M y col. Unmanipulated haploIDential stem cell transplantation in adults with acute lymphoblastic leukemia: a study on behalf of the Acute Leukemia Working Party of the EBMT. *Journal*

- Hematol Oncol. 2017;10:113.
19. Srour SA, Milton DR, Bashey A y col. haploIDential Transplantation with Post-Transplantation Cyclophosphamide for High-Risk Acute Lymphoblastic Leukemia. Biol Blood Marrow Transplant. 2017;23: 318-324.
 20. Basquiera AL, Berro M, Yantorno S y col. haploIDential Transplant in Adult Patients with Acute Lymphoblastic Leukemia in Argentina: A Comparison with Matched Related and Unrelated Donors. Bone Marrow Transplant, 2019, in press.
 21. Shem-Tov N, Peczynski C, Labopin M y col. haploIDential vs. unrelated allogeneic stem cell transplantation for acute lymphoblastic leukemia in first complete remission: on behalf of the ALWP of the EBMT. Leukemia. 2019. doi:10.1038/s41375-019-0544-3.
 22. Litzow MR, Fielding AK, Luger SM y col. The evolving role of chemotherapy and hematopoietic cell transplants in Ph-positive acute lymphoblastic leukemia in adults. Bone Marrow Transplant. 2017;52: 1592-1598.
 23. Ribera J-M, García O, Montesinos P y col. Treatment of young patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia using increased dose of imatinib and deintensified chemotherapy before allogeneic stem cell transplantation. Br J Haematol. 2012;159: 78-81.
 24. Bassan R, Rossi G, Pogliani EM y col. Chemotherapy-phased imatinib pulses improve long-term outcome of adult patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: Northern Italy Leukemia Group protocol 09/00. J Clin Oncol. 2010;28: 3644-3652.
 25. Chalandon Y, Thomas X, Hayette S y col; Group for Research on Adult Acute Lymphoblastic Leukemia (GRAALL). Randomized study of reduced-intensity chemotherapy combined with imatinib in adults with Ph-positive acute lymphoblastic leukemia. Blood. 2015;125:3711-3719.
 26. Ravandi F, Othus M, O'Brien SM y col. US Intergroup Study of Chemotherapy Plus Dasatinib and Allogeneic Stem Cell Transplant in Philadelphia Chromosome Positive ALL. Blood Adv. 2016;1: 250-259.
 27. Chiaretti S, Vitale A, Vignetti M y col. A sequential approach with imatinib, chemotherapy and transplant for adult Ph+ acute lymphoblastic leukemia: final results of the GIMEMA LAL 0904 study. Haematologica. 2016;101: 1544-1552.
 28. Candoni A, Rambaldi A, Fanin R y col. Outcome of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Adult Patients with Philadelphia Chromosome-Positive Acute Lymphoblastic Leukemia in the Era of Tyrosine Kinase Inhibitors: A Registry-Based Study of the Italian Blood and Marrow Transplantation Society (GITMO). Biol Blood Marrow Transplant. 2019; doi:10.1016/j.bbmt.2019.07.037.
 29. Wang J, Jiang Q, Xu L-P y col. Allogeneic Stem Cell Transplantation versus Tyrosine Kinase Inhibitors Combined with Chemotherapy in Patients with Philadelphia Chromosome-Positive Acute Lymphoblastic Leukemia. Biol Blood Marrow Transplant. 2018;24: 741-750.
 30. Soverini S, Bassan R, Lion T. Treatment and monitoring of Philadelphia chromosome-positive leukemia patients: recent advances and remaining challenges. J Hematol Oncol. 2019;12: 39.
 31. DeFilipp Z, Advani AS, Bachanova V y col. Hematopoietic Cell Transplantation in the Treatment of Adult Acute Lymphoblastic Leukemia: Updated 2019 Evidence-Based Review from the American Society for Transplantation and Cellular Therapy. Biol Blood Marrow Transplant. 2019; doi:10.1016/j.bbmt.2019.08.014
 32. Master S, Koshy N, Mansour R, Shi R. Effect of Stem Cell Transplant on Survival in Adult Patients With Acute Lymphoblastic Leukemia: NCDB Analysis. Anticancer Res. 2019;39: 1899-1906.
 33. Ribera J-M, Oriol A, Morgades M y col. Treatment of high-risk Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in adolescents and adults according to early cytologic response and minimal residual disease after consolidation assessed by flow cytometry: final results of the PETHEMA ALL-AR-03 trial. J Clin Oncol. 2014;32: 1595-1604.
 34. Stock W, Luger SM, Advani AS y col. A pediatric regimen for older adolescents and young adults with acute lymphoblastic leukemia: results of CALGB 10403. Blood. 2019;133:1548-1559.
 35. Aldoss I, Pullarkat V. Indications for allogeneic hematopoietic cell transplantation for adults with Philadelphia-chromosome negative acute lymphoblastic leukemia in first complete remission: all about MRD? Bone Marrow Transplant. 2019;54: 3-5.
 36. Gökbuget N, Kneba M, Raff T y col. Adult patients with acute lymphoblastic leukemia and molecular failure display a poor prognosis and are candidates for stem cell transplantation and targeted therapies. Blood. 2012;120: 1868-1876.
 37. Dhédin N, Huynh A, Maury S y col. Role of allogeneic stem cell transplantation in adult patients with Ph-negative acute lymphoblastic leukemia. Blood. 2015;125: 2486-96; quiz 2586.

38. Giebel S, Marks DI, Boissel N y col. Hematopoietic stem cell transplantation for adults with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in first remission: a position statement of the European Working Group for Adult Acute Lymphoblastic Leukemia (EWALL) and the Acute Leukemia Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Bone Marrow Transplant.* 2019;54: 798-809.
39. Bachanova V, Burke MJ, Yohe S y col. Unrelated cord blood transplantation in adult and pediatric acute lymphoblastic leukemia: effect of minimal residual disease on relapse and survival. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2012;18: 963-968.
40. Sanchez-Garcia J, Serrano J, Serrano-Lopez J y col. Quantification of minimal residual disease levels by flow cytometry at time of transplant predicts outcome after myeloablative allogeneic transplantation in ALL. *Bone Marrow Transplant.* 2013;48: 396-402.
41. Zhou Y, Slack R, Jorgensen JL y col. The effect of peripheral blood stem cell transplantation on minimal residual disease in adults with acute lymphoblastic leukemia undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2014;14: 319-326.
42. Lee S, Kim D-W, Cho B-S y col. Impact of minimal residual disease kinetics during imatinib-based treatment on transplantation outcome in Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 2012;26: 2367-2374.
43. Terwey TH, Hemmati PG, Nagy M y col. Comparison of chimerism and minimal residual disease monitoring for relapse prediction after allogeneic stem cell transplantation for adult acute lymphoblastic leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014;20: 1522-1529.
44. Tekgündüz E, Kaynar L, Göker H y col. Retrospective analysis of adult patients with acute lymphoblastic leukemia undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation: A multicenter experience of daily practice. *Transfus Apher Sci.* 2016;54: 41-47.



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

Previsión transfusional en el paciente quirúrgico

How to prevent transfusion demand in surgery

Dr. Pablo Raña

Lugar de trabajo

pabloandresrana@yahoo.com.ar



**MANEJO
INTERDISCIPLINA-
RIO DE LA
TRANSFUSIÓN**

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 106-109
Octubre 2019

Palabras claves:

Keywords:

La sangre y sus hemocomponentes son un recurso de suma utilidad en la práctica clínica. No siempre son considerados los efectos colaterales potenciales de las transfusiones (infecciones transmisibles por transfusión, reacciones febriles no hemolíticas, reacciones alérgicas, desarrollo de aloanticuerpos, anafilaxia, injuria pulmonar relacionada a transfusión, contaminación bacteriana de productos sanguíneos, sobrecarga de volumen o TACO, entre otros), lo cual lleva a que no siempre sean tenidas en cuenta las medidas previas, recomendadas para usar este recurso en última instancia⁽¹⁾.

En las últimas décadas se vio una tendencia a disminuir el nivel de tolerancia a la anemia y se redujeron los niveles “gatillo” de hematocrito y hemoglobina para indicación de transfusiones, en base a estudios que probaron la tolerancia del organismo a niveles inferiores de los utilizados anteriormente⁽²⁾.

En relación al manejo restrictivo de transfusiones, se realizaron 2 fuertes recomendaciones clínicas. El primer grupo, en relación a pacientes adultos en cui-

dados intensivos, clínica y hemodinámicamente estables, incluyendo pacientes con shock séptico pero sin sangrado activo. En este grupo se recomendó un nivel límite de 7 g/dl de hemoglobina. Esta recomendación no aplicaría en pacientes de cuidado intensivo y síndromes coronarios asociados, otras enfermedades isquémicas coronarias o injuria cerebral. En este último grupo de pacientes, el valor límite se estableció en 7.5 g/dl de hemoglobina. En ninguno de los casos se vio mayor incidencia de complicaciones al utilizar el manejo restrictivo⁽³⁾.

En el caso de pacientes quirúrgicos existen recomendaciones sólo en dos situaciones específicas. Una fue en cirugía por fractura de cadera, en cuyo caso se estableció valor límite de 8 g/dl de Hb. No se contemplaron pacientes con síndromes coronarios; tampoco se establecieron extrapolaciones de este tipo de pacientes para otro tipo de cirugías ortopédicas o de complejidad similar. La segunda situación para la cual se propuso una recomendación en relación al nivel de transfusiones de hematíes fue en pacientes

con sangrado activo de tracto digestivo alto. Para esta situación el nivel de hemoglobina se estableció entre 7 y 8 g/dl⁽³⁾.

Una buena evaluación pretransfusional del riesgo de sangrado es imprescindible a fin de poder estimar riesgo potencial de sangrado en una cirugía.

Los médicos hematólogos y hemoterapeutas estamos mejor entrenados que otros especialistas en dirigir el interrogatorio a fin de poder pesquisar antecedentes de trastornos hemorrágicos no identificables en el laboratorio prequirúrgico de rutina. En ese sentido es importante buscar siempre antecedentes personales o familiares que nos sugieran una ampliación del estudio de laboratorio. Tampoco hay que dejar pasar la utilización de tratamientos anticoagulantes o antiagregantes, u otras medicaciones que puedan afectar el funcionamiento plaquetario, y en ese caso tener prevista la suspensión oportuna. Alteraciones en la función renal y hepática también pueden afectar la hemostasia⁽²⁾.

En pacientes con alteración de la hemostasia (congénita o adquirida) debemos evaluar el uso de factores o medicación que permitan minimizar el sangrado potencial intraoperatorio.

En caso de anemia hay que tratar de identificar el origen y buscar la forma de poder mejorar los valores de hemoglobina previos a la cirugía. De no ser así, esta anemia aumentará el riesgo de necesidad de transfusión intraoperatoria. En este sentido la realidad es que habitualmente los pacientes son derivados a nuestra consulta sin el tiempo necesario para corregir anemias carenciales. Deberíamos contar con, al menos, 45 a 60 días de anticipación para poder corregir una anemia y en lo cotidiano el paciente suele llegar a nuestra consulta en la semana previa a la cirugía. Esto requiere equipos médicos que trabajen en forma coordinada, y la mayoría de las Instituciones médicas de nuestro medio no cuentan con esos equipos. En función de los tiempos y de las posibilidades del medio deberá evaluarse la forma de corregir las carencias identificadas (hierro, B12 y/o ácido fólico orales o parenterales)⁽²⁾.

La anemia en el preoperatorio, además de aumentar el riesgo de necesidad de transfusiones, también se vio asociada a aumento de complicaciones postoperatorias (infecciones, días de ventilación, etc.) que derivan en mayor duración de la internación⁽²⁾.

Existen otros factores de complicaciones potenciales que pueden hacer imprecisa la previsión de sangre y

hemoderivados en cirugías. En caso de sangrados activos se hace difícil establecer el nivel real de hemoglobina en los tiempos intraoperatorios y ello lleva a no poder establecer un requerimiento real de sangre y hemoderivados. Muchos de los parámetros clínicos de valoración se dificultan en el paciente bajo anestesia general. Esto no nos permite evaluar algunas de las situaciones que llevan a cambios hemodinámicos; tampoco podemos detectar correctamente reacciones transfusionales, lo cual incrementa el riesgo de las mismas.

Algunas guías brindan recomendaciones vagas en relación a cuando "gatillar" una transfusión, tales como: monitorear la pérdida de sangre, controlar la Hb o Hto previos a la transfusión, adoptar estrategias restrictivas de transfusión, o constatar perfusión y oxigenación adecuadas.

El predepósito de sangre autóloga se utilizó mucho en años anteriores, especialmente en el período de mayor riesgo de transmisión de infecciones por transfusión. Hoy en día su práctica habitual ha disminuido en forma significativa y su uso casi sólo se recomienda en el caso de pacientes con presencia de aloanticuerpos, grupos sanguíneos poco habituales, u otras situaciones puntuales específicas. En el caso de colecta de sangre autóloga debe tenerse presente la indicación de hierro (oral o parenteral) para asegurar la recuperación de los eritrocitos donados en predepósito⁽⁶⁾.

La hemodilución normovolémica en ciertas cirugías, especialmente cirugías cardíacas, brinda la posibilidad de reponer sangre entera con presencia de plaquetas y factores de coagulación que disminuyen complicaciones postoperatorias. En este caso se extrae una unidad de sangre entera inmediatamente antes de la cirugía, reemplazando la misma con expansores de volumen. Esta unidad se conserva a temperatura ambiente en quirófano y se utiliza ante alguna situación de emergencia o al final de la cirugía, favoreciendo la hemostasia (al tener factores de coagulación y plaquetas).

El uso de antifibrinolíticos sistémicos u otros productos locales es reportado en algunos estudios como elementos que disminuyen el sangrado. Su mayor uso se da en algunas cirugías traumatológicas. Su uso en forma universal es controvertido, debido al riesgo potencial de eventos tromboembólicos⁽⁵⁾.

Los estudios de coagulación no tienen mucha utilidad en cuanto a orientación dinámica de requerimiento

transfusional en el intraoperatorio. En algunos tipos de cirugía (cardiovasculares, trasplante hepático por ejemplo) se ha reportado mucha utilidad de los métodos viscoelásticos (tromboelastografía y tromboelastometría). Éstos están descriptos como de gran utilidad en situaciones puntuales, en las cuales optimizan el recurso transfusional⁽⁵⁾.

A modo de resumen cito recomendaciones del consenso de Frankfurt en relación a *Patient Blood Management*. La OMS (Organización Mundial de la Salud) definió como *Patient Blood Management* (PBM) un sistema de recomendaciones basadas en evidencia, tendientes a optimizar el manejo de pacientes y el uso de transfusiones en forma adecuada. Diseñado para mejorar la evolución de los pacientes a través del uso adecuado y racional de sangre y hemoderivados, minimizando así la exposición a los mismos⁽³⁾.

Un consorcio internacional de distintas organizaciones representativas de Sociedades Transfusionales, se reunieron y desarrollaron 17 preguntas tendientes a estandarizar indicaciones transfusionales. El cuestionario se refería a población, intervención, comparación y evolución (*outcome*), formando así el acrónimo PICO. De estas 17 preguntas "PICO", 3 estaban referidas a diagnóstico y tratamiento preoperatorio de la anemia, 11 a la efectividad y seguridad de niveles en distintos grupos de pacientes y otras 3 tendientes a implementación de estrategias en PBM. Todo esto referido a pacientes adultos⁽³⁾.

En la tabla 1 vemos las recomendaciones de este equipo de expertos en relación al manejo preoperatorio.

Las recomendaciones son muy genéricas e inespecí-

ficas, pero ofrecen una buena guía para manejo de las situaciones consideradas.

Recomendación 1. Establece una categorización de los riesgos previstos para determinadas complicaciones y en determinadas cirugías, de acuerdo al nivel de anemia previa.

Recomendación 2. En pacientes con anemia ferropénica se estableció el beneficio de terapia con hierro parenteral o VO previos. Aclara que la indicación deberá establecerse en forma individual en cada caso (de acuerdo a tiempos, situación del paciente, tipo de cirugía, etc.).

Recomendación 3. Es muy imprecisa, con escaso nivel de evidencia, por lo cual no se recomienda el uso rutinario de estos agentes. Menciona el riesgo de complicaciones potenciales (eventos tromboembólicos e hipertensión arterial)

Recomendación 4. La evidencia tampoco es concluyente en función del alto riesgo de complicaciones potenciales y sugiere que sea considerada en cada situación en particular.

Recomendación 5. Si bien no se vio menor mortalidad en el grupo restrictivo, si se vio menor exposición a transfusiones. No menciona diferencias en morbilidad entre ambos grupos.

Recomendación 6. Igual que en la anterior, sólo menciona menor exposición a transfusiones en el grupo restrictivo, sin diferencias en la morbilidad entre ambos grupos, ni diferencias en la duración de las internaciones.

Recomendación 7. También acá hicieron énfasis en destacar la ausencia de complicaciones mayores en el

Tabla 1. Recomendaciones clínicas... Anemia

Recomendaciones clínicas	Nivel de evidencia
CR1. Detección de anemia preoperatoria con ante-lación suficiente en cirugía mayor.	Recomendación fuerte. Certeza baja en nivel de evidencia
CR2. Suplementación con hierro para reducir el índice de transfusión de GRD en pacientes adultos con anemia ferropénica	Recomendación condicional. Certeza moderada en evidencia de efectos
CR3. No usar estimulantes de la eritropoyesis en forma rutinaria en pacientes adultos preoperatorios con deficiencia de hierro en cirugía electiva.	Recomendación condicional. Certeza baja en evidencia de efectos
CR4. Considerar eritropoyetinas de corta duración + suplementación con hierro para disminuir los índices de transfusiones en pacientes adultos preoperatorios con Hb <13 g/dl en plan de cirugía ortopédica mayor electiva	Recomendación condicional. Certeza baja en evidencia de efectos

grupo restrictivo y no mencionan si el grupo liberal tuvo otras complicaciones a partir del mayor uso de unidades de GRD.

Recomendación 5. Si bien no se vio menor mortalidad en el grupo restrictivo, si se vio menor exposición a transfusiones. No menciona diferencias en morbilidad entre ambos grupos.

Recomendación 6. Igual que en la anterior, sólo menciona menor exposición a transfusiones en el grupo restrictivo, sin diferencias en la morbimortalidad entre ambos grupos, ni diferencias en la duración de las internaciones.

Recomendación 7. También acá hicieron énfasis en destacar la ausencia de complicaciones mayores en el grupo restrictivo y no mencionan si el grupo liberal tuvo otras complicaciones a partir del mayor uso de unidades de GRD.

Recomendación 8. En este caso sí se vio una diferen-

cia significativa en la mortalidad a 30 días a favor del grupo restrictivo.

Podemos concluir que necesitamos continuar aprendiendo acerca de cómo podemos intervenir en las distintas situaciones médicas y en distintos grupos de pacientes para brindarles el mejor soporte, tanto en el pre como en el intra y el post operatorio.

Una evaluación periódica de los pacientes transfundidos en cada institución, con un control de hemograma pre cirugía y pre transfusión, nos permitiría conocer el estado de cada institución en lo referente a este tema. Esto nos objetivaría cuántos pacientes llegan a cirugía con niveles de hematocrito/hemoglobina que podrían ser optimizados previamente. Así podríamos evaluar la posibilidad o necesidad de adecuar la interacción entre los distintos servicios a fin de optimizar el recurso transfusional, lo cual termina redundando en un beneficio para el sistema y los pacientes.

Tabla 2. Recomendaciones clínicas...

Recomendaciones clínicas	Nivel de evidencia
CR5. Transfusión de GRD restrictiva (Hb<7 g/dl) en pacientes de UTI críticamente enfermos pero clínicamente estables	Recomendación fuerte. Certeza moderada en nivel de evidencia
CR6. Transfusión de GRD restrictiva (Hb<7.5 g/dl) en pacientes en plan de cirugía cardíaca	Recomendación fuerte. Certeza moderada en nivel de evidencia
CR7. Transfusión de GRD restrictiva (Hb<8 g/dl) en pacientes con fractura de cadera + enfermedad cardiovascular u otro factor de riesgo	Recomendación condicional. Certeza moderada en nivel de evidencia
CR8. Transfusión de GRD restrictiva (Hb 7-8 g/dl) en pacientes con sangrado digestivo activo y clínicamente estables.	Recomendación condicional. Certeza baja en nivel de evidencia

Conflictos de interés:

Bibliografía

- Baker L et al. Open Guidelines on the intraoperative transfusion of red blood cells: a protocol for systematic review. *BMJ. Open* 2019; 9:e029684.doi:10.1136/bmjopen-2019-029684.
- Hare GM. Tolerance of Anemia: understanding the adaptive physiological mechanisms which promote survival. *Transfus Apher Sci.* 2014;50:10-12.
- Mazer CD et al. Six Month Outcomes after Restrictive or Liberal Transfusion of Cardiac Surgery. *NEJM.* 2011;365:2453-62.
- Markus M Mueller et al. Patient Blood Management. Recommendations from the 2018 Frankfurt Consensus Conference.
- American Society of Anesthesiologists: Practice guidelines for perioperative blood transfusion and adjuvant therapies. *Anesthesiology.* 2015; 122:241-75 242.
- Manual Técnico AABB 18° Edición.



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.

Algoritmo inmunohematológico en pacientes tratados con Anti-CD38.

Immunohematological algorithm in patients treated with anti-CD38

Vellicce A¹, Arto P¹, García M¹, Guaita J¹,
Marcos V¹, Corso A²

¹Departamento de Hemoterapia e Inmunohematología. 2 Servicio de Hematología
Hospital de Clínicas José de San Martín Universidad de Buenos Aires. UBA

alevellicce@yahoo.com.ar



MANEJO
INTERDISCIPLINA-
RIO DE LA TRANSFU-
SIÓN

HEMATOLOGÍA
Volumen 23 Número Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 110-115
Octubre 2019

Palabras claves: Daratumumab,
Ditiotreitol,
Pruebas pretransfusionales,
Mieloma múltiple.

Keywords: Daratumumab,
Dithiothreitol,
Pre-transfusion tests,
Multiple myeloma.

Resumen

Daratumumab es un anticuerpo monoclonal utilizado para el tratamiento del mieloma múltiple. Por sus propiedades anti-CD38, presente en los glóbulos rojos, produce reacciones falso-positivas en las pruebas inmunohematológicas pretransfusionales. Este fenómeno generó varias estrategias para la eliminación de esta interferencia. Esta reseña pretende describir los fundamentos y estrategias utilizadas en el banco de sangre para resolver el análisis inmunohematológico de estos pacientes.

Abstract

Daratumumab is a monoclonal antibody used for the treatment of multiple myeloma. Because of its anti-CD38 properties, present in red blood cells, it produces false-positive reactions in pretransfusional immunohematological tests. This phenomenon generated several strategies for the elimination of this interference. This review aims to describe the fun-

damentals and strategies used in the blood bank to resolve the immunohematological analysis of these patients.

Introducción

El Daratumumab (DARA) es una inmunoglobulina monoclonal IgGκ utilizada desde 2015 para el tratamiento del mieloma múltiple por su acción sobre el antígeno (Ag) CD38, característico de los plasmocitos atípicos. La unión de DARA a este Ag desencadena la citotoxicidad dependiente del complemento y la apoptosis de las células malignas.

Los glóbulos rojos (GR), que también presentan este Ag ⁽¹⁾, son blanco del DARA. Esta interacción produce interferencias en las pruebas inmunohematológicas pretransfusionales.

Chapuy et al ⁽²⁾ observaron que 5 pacientes tratados con DARA tenían resultados positivos en la búsqueda de anticuerpos (AC) por las pruebas inmunohematológicas de rutina y sugirieron que la panreacti-

vidad observada en el banco de sangre fue causada por la unión directa de DARA con los Ag CD38 propios de los GR. Afortunadamente, este Ag es desnaturalizado por la acción de agentes reductores como el ditiotreitól (DTT) y destruido por enzimas proteolíticas como la tripsina.

Los pacientes oncohematológicos requieren un alto soporte transfusional. El objetivo de los bancos de sangre es evitar o disminuir la producción de Ac dirigidos contra otros Ag de grupos sanguíneos diferentes del ABO y que tienen importancia clínica, ya que pueden provocar hemólisis retardada.

Los estímulos que pueden generar la producción de Ac son las transfusiones de diferentes componentes sanguíneos, los trasplantes y los embarazos.

Estudios inmunohematológicos de rutina y la interferencia por DARA

Las pruebas pretransfusionales (PPT) consisten en la determinación del Sistema ABO, del Sistema RH (D, C, c, E, e), la detección e identificación de Ac irregulares y las pruebas de compatibilidad. La implementación depende de cada banco de sangre. Son un conjunto de pruebas insertadas en el proceso transfusional, realizadas con diversas metodologías y técnicas, las cuales deben estar protocolizadas y estructuradas mediante un sistema enfocado en la calidad. Su uso limita el riesgo transfusional en el receptor, al evitar las reacciones hemolíticas tardías (RHT) ⁽³⁾.

La interferencia por de DARA se observa en la Prueba de Coombs indirecta (PCI), a 37°C, como una típica panaglutinación débil. Este es el primer método para detección de aloanticuerpos clínicamente significativos. Sin embargo, para constatar la incompatibilidad ABO, realizada a temperatura ambiente y seguida de una centrifugación inmediata no se observó dicha interferencia. Por lo tanto, el fenómeno que produce DARA en la PCI no sucede en las pruebas para ABO y RhD ⁽⁴⁾.

Efectivamente, en los paneles de detección e identificación de AC, el plasma de los pacientes tratados con DARA producen una reacción de panaglutinación débil (1+ o 2+, usando una puntuación de 0-4) en todas las pruebas de Coombs, incluyendo técnica de aglutinación en columnas, pruebas en tubo y fase sólida. La PCI puede permanecer positiva 6 meses después de discontinuar el tratamiento. Este fenómeno debe investigarse, ya que puede enmascarar la presencia de aloanticuerpos clínicamente significati-

vos o la presencia de anemia hemolítica autoinmune. Es interesante mencionar que el plasma de los pacientes tratados puede aglutinar los GR de los donantes y del propio paciente, pero el autocontrol en los paneles de identificación y la prueba de Coombs directa suelen ser negativos. Esta observación sugiere que los GR de los pacientes poseen altos niveles de CD38 que capturan los Anti-CD38 circulantes y, como consecuencia, disminuyen su concentración plasmática, o bien que existe una menor expresión del Ag eritrocitario.

La interferencia de DARA significa un gran inconveniente en la realización de las pruebas pretransfusionales. Como consecuencia, es inevitable la demora en la disponibilidad de sangre para la transfusión, especialmente si se desconocía si el paciente había sido tratado. Además, los aloanticuerpos clínicamente significativos pueden enmascararse o pasar desapercibidos y potencialmente desencadenar una reacción hemolítica aguda o tardía. En caso de transfusiones urgentes o de emergencia la determinación de ABO y RhD podría realizarse y proveer unidades ABO compatibles, y posteriormente realizar las pruebas para disminuir el riesgo.

Superando la interferencia del tratamiento con Anti-CD38

Varios métodos han sido propuestos para superar esta interferencia en las pruebas inmunohematológicas con el objetivo de reducir el riesgo de transfusiones incompatibles y la posibilidad de reacciones transfusionales. El más difundido es el tratamiento del plasma del paciente y de los GR del panel celular con DTT o tripsina. Otra opción es realizar en el paciente un fenotipo extendido o genotipo antes de la primera dosis de DARA a fin de contar con unidades compatibles o cuando la interferencia que produzca no pueda ser resuelta a la brevedad ante una transfusión urgente. La transfusión de GR con igual fenotipo o genotipo del paciente disminuye el riesgo de sensibilización para futuros aloanticuerpos.

El DTT es un agente reductor utilizado en Inmunohematología que destruye los puentes de disulfuro del dominio extracelular del CD38. De esta manera, se previene la unión del anti-CD38 al GR. El método es robusto y reproducible, utilizado en laboratorios de referencia en la especialidad, pero no es automatizado.

La tripsina es una enzima proteolítica que no es uti-

Tabla 1. Antígenos afectados por el tratamiento con DTT o enzimas proteolíticas.

DTT	Tripsina	Papaína/bromelina
Kell (K,k,Kp ^a ,Kp ^b ,Js ^a ,Js ^b ,Ku	Cartwright	Duffy
Cartwright (Yt ^a)	(Yt ^a)	MNSs,N
JMH	Indian	Indian
Sciana	Ge2	JMH
LW	Ge3,Ge4	Bp ^a
Luteran	Dombrock	Ch/Rg
Mer2	Bp ^a	Xga
Ge3	Ch/Rg	FsaTS
Dombrock	Xga	Ge2 Ger4
Algunos Diego	MN	Fy ^a , Fy ^b , Fy ⁶
Cromer	aTS Luteran Mer2 Knops	Yta

Se sugiere realizar fenotipo extendido para los Ag RhD, C, c, E, e, K, Jk^a, Jk^b, Fy^a, Fy^b, Ss.

lizada en los métodos de rutina y es menos eficiente que el DTT. Otras enzimas proteolíticas comúnmente usadas son la papaína, ficina y bromelina, como parte de los protocolos de identificación de anticuerpos para mejorar la reactividad débil o resolución de múltiples especificidades de anticuerpos.

El DTT y la tripsina pueden disminuir la reactividad de algunos Ag. de los grupos sanguíneos (Tabla 1), situación que debería tenerse en cuenta cuando se tipifica a un individuo.

En particular, el DTT desnaturaliza al Ag Kell, por esta razón, cuando se lo utiliza para resolver la interferencia por DARA, los pacientes deberían transfundirse con unidades de GR Kell negativas o demostrar si son Kell positivos previamente. En la actualidad, no están disponibles GR tratados con DTT o tripsina.

Una alternativa óptima para el manejo de la interferencia con Anti-CD38 sería neutralizarlo con CD38 o un Ac anti-idiotipo en el plasma del paciente. Sin embargo es costoso y no está disponible para el trabajo diario.

Sugerencias antes que el paciente reciba tratamiento con Daratumumab

Es importante tener en cuenta 6 consideraciones:

1) Comunicación entre el médico tratante y el banco de sangre o servicio de Medicina Transfusional, de

que el paciente comenzará a tratarse con DARA.

2) Evaluar los antecedentes transfusionales, obstétricos y medicaciones del paciente.

3) Realizar la tipificación de ABO y RhD

4) Realizar detección de Ac irregulares y PCD

5) Realizar el fenotipo extendido (previamente a recibir el tratamiento con DARA, no tiene antecedentes de transfusiones o si pasaron más de 3 meses de la última transfusión), o el genotipo, en caso de estar disponible.

6) Entregar al paciente una tarjeta que alerte que recibe tratamiento con DARA.

Pruebas pretransfusionales cuando comenzó el tratamiento con DARA

Es importante tener en cuenta 6 consideraciones:

1) Antecedentes transfusionales, obstétricos y medicaciones

2) Realizar ABO RhD y PCD

3) Detección de Ac irregulares

4) Si presenta panaglutinación, realizar pruebas con DTT

5) Realizar fenotipo extendido

6) Donante de GR

Transfusión de emergencia en caso de sangrado

El mayor riesgo es la transfusión de sangre ABO incompatible. En situaciones de emergencia este

riesgo se mitiga al utilizar sangre O RhD negativa⁽⁴⁾. La Sociedad Española de Transfusión Sanguínea y terapia Celular, así como otras sociedades científicas coinciden con las recomendaciones sobre el manejo de las muestras de pacientes tratados con Anti-CD38⁽⁵⁾.

En el Departamento de Hemoterapia e Inmunohematología del Hospital de Clínicas se realiza de rutina la fenotipificación para RhD y Kell a los pacientes oncohematológicos o con antecedentes de haber recibido DARA. Para estos últimos, realiza el tratamiento de GR con DTT, como lo describió la Asociación Americana de Bancos de sangre (AABB)⁽⁶⁾ y se extiende la fenotipificación a otros sistemas antigénicos sugeridos.

Debe recordarse que el DTT desnaturaliza al Ag Kell y otros sistemas enumerados en tabla 1.

Método de reducción de DTT aplicado para pacientes bajo tratamiento con DARA

Se describe a continuación el protocolo utilizado en nuestro Departamento, según el manual técnico de la AABB⁽⁶⁾.

Preparación de reactivos

1. DTT 0,2 M: disolver 1 g de DTT en 32 ml de solución salina amortiguada con fosfato (SSAF) a pH 8. Fraccionar en volúmenes iguales de 1 ml y congelar las alícuotas a -18°C o menos.
2. SSAF a pH 7.3
3. GR positivos para los Ag en cuestión
4. GR Kell positivo, como control de reacción del DTT
5. Antisuero Anti-Kell, como reactivo expresado en la muestra.

Procedimiento

1. Lavar 1 volumen de células en estudio y 1 volumen de células control con SSAF. Después de eliminar sobrenadante
2. Agregar 4 volúmenes de DTT 0,2 M a pH 8
3. Incubar a 37 °C durante 30 a 45 minutos.
4. Lavar cuatro veces con SSAF. Puede observarse hemólisis leve; si es excesiva, repetir el procedimiento con GR frescos menos cantidad de DTT, por ej. 2 o 3 volúmenes.
5. Resuspender las células al 2-5% en SSAF
6. Evaluar las células tratadas con DTT con el suero que contiene los Ac en cuestión. Evaluar los GR

Kell positivo con Anti-Kell

Interpretación

1. Los GR de control Kell positivo no deben reaccionar cuando se analizan con anti-K; en caso contrario el tratamiento con DTT fue inadecuado. Otros Ag del sistema Kell pueden servir como controles.
2. Si la reactividad del suero en estudio desaparece, el fenómeno puede confirmar la especificidad de los AC.

Este método es barato y simple para desnaturalizar CD38, pero requiere tiempo extra para el tratamiento de los paneles celulares con DTT. Por lo tanto, las pruebas pretransfusionales con el agente reductor son más prolongadas que las utilizadas en la rutina del banco de sangre.

Lorenzen H y colaboradores⁽⁷⁾ modificaron el método sugerido por AABB para evitar la hemólisis del panel globular y aumentar el tiempo de conservación. Mezclaron 30 µl de paquete globular con 4 volúmenes diferentes de DTT 0,2 M (100, 75, 50 y 25 µl) para la realización de paneles de identificación de AC. Además, utilizaron paneles no tratados como referencia. Reportaron que el tratamiento de 30 µl de GR con 25 µl 0,2 M de DTT fue suficiente para eliminar la interferencia producida por DARA y permitir la detección de AC.

La ventaja de este método fue que se logró prolongar el almacenamiento de los paneles celulares tratados con DTT a 33 días posteriores a su preparación. Este procedimiento mejoró la eficiencia del servicio transfusional y fue implementado en el Departamento de Inmunología Clínica del Hospital de Herlev, de Dinamarca⁽⁷⁾.

En resumen, el tratamiento de pacientes con DARA condujo a modificar los procesos analíticos de las pruebas pretransfusionales en el laboratorio de Inmunohematología. Un algoritmo propuesto se presenta en la figura 1.

El Servicio de Hematología envía a los pacientes, antes de comenzar tratamiento con Daratumumab para evaluar antecedentes relevantes, como trasplantes y transfusiones o el tiempo transcurrido de la última transfusión, y realizar el fenotipo extendido, y en caso de requerir transfusiones se amplía el fenotipo a lo sugerido.

Se incorporó al algoritmo habitual del proceso transfusional, el tratamiento con DTT, además se capacitó a técnicos de diferentes turnos a fin de po-

der cumplir con los requerimientos transfusionales los 365 días del año.

Conclusión

La interferencia en las pruebas inmunohematológicas realizadas en los pacientes que reciben DARA condujeron a modificaciones en las pruebas pretransfusionales, se propusieron varias maneras de enfrentar esta interferencia en la rutina, las cuales dependerán de la relación costo/beneficio (8). La interrelación entre los profesionales de las especialidades de Hematología y Hemoterapia siempre será beneficiosa para el paciente, y así permite la capacitación continua del personal de la Institución.

Abreviaturas

AABB: Asociación Americana de Bancos de Sangre.

Ag: antígeno

DARA: Daratumumab

GR: Glóbulos Rojos

DTT: dithiotreitol.

Ez: enzimas

LISS: Baja fuerza iónica.

PEG: Polietilenglicol

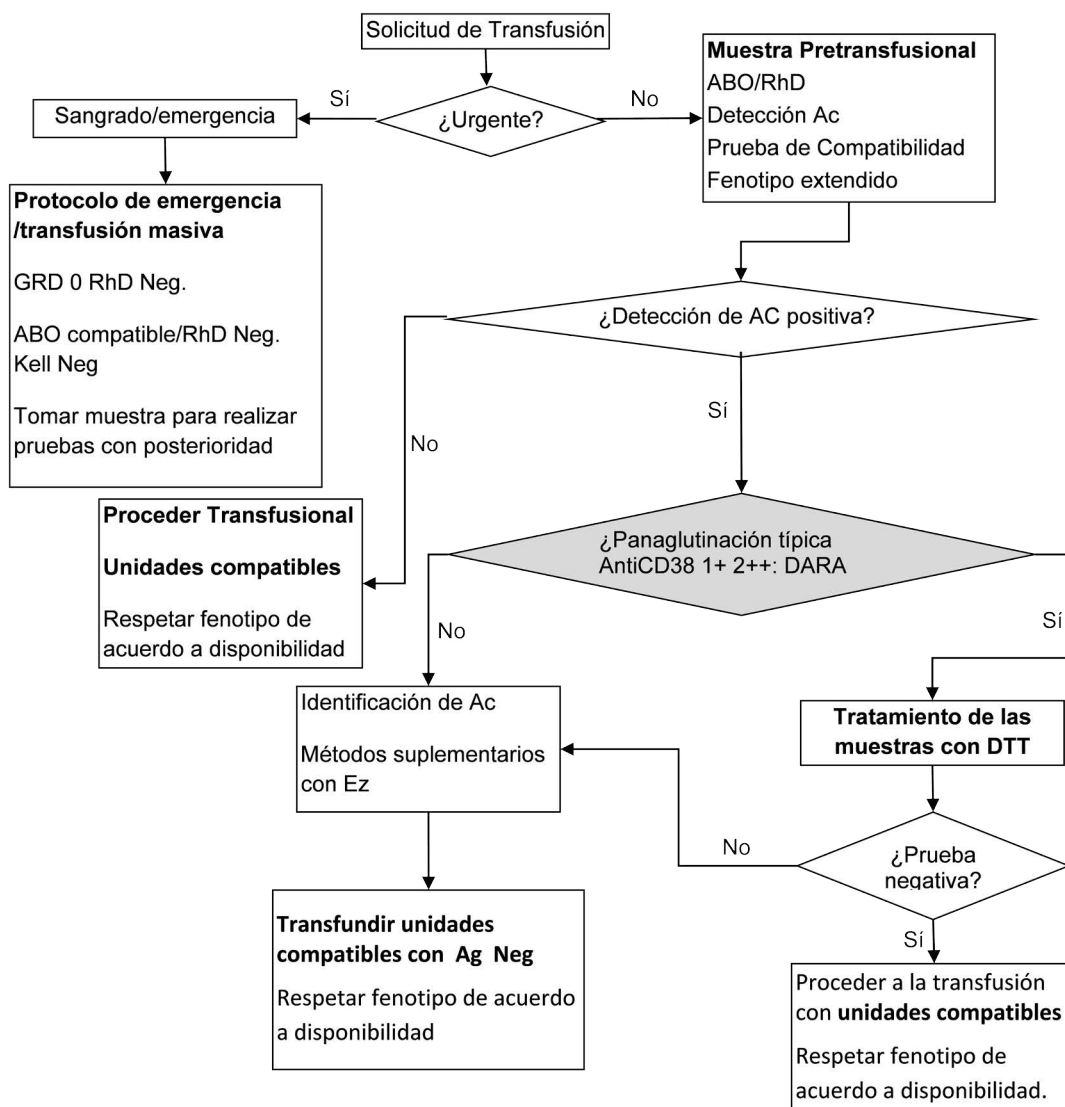
PPT: Pruebas Pre Transfusionales.

RHT: reacción hemolítica tardía

PCI: Prueba de Coombs Indirecta

PCD: Prueba de Coombs Directa.

Figura 1. Algoritmo del Departamento de Hemoterapia e Inmunohematología del Hospital de Clínicas. UBA



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

Bibliografía

1. Albeniz I, Demir O, Turker-Sener L, Yalcintepe L, Nurtan R, Bermek E. Erythrocyte CD38 as a prognostic marker in cancer. *Hematology*. 2007;12:409-14.
2. Chapuy CI, Nicholson RT, Aguad MD, Chapuy B, Laubach JP, Richardson PG, Doshi P, Kaufman RM. Resolving the daratumumab interference with blood compatibility testing. *Transfusion*. 2015 Jun;55(6 Pt 2):1545-54. doi: 10.1111/trf.13069. Epub 2015 Mar 12
3. León de González G, Pruebas pretransfusionales. Inmunohematología básica y aplicada. 1era edición. GCIAMT Grupo Cooperativo Iberoamericano de Medicina Transfusional. Colombia 2014.173-194.
4. Quach H. Considerations for pre-transfusion immunohaematology testing in patients receiving the anti-CD38 monoclonal antibody Daratumumab for the treatment of multiple myeloma. *International Medicine Journal*. Royal Australian College of Physicians.2018;48:210-220.
5. Muñoz-Díaz E. Recomendaciones de manejo de muertes de pacientes tratados con Anti-CD38 en las pruebas de compatibilidad transfusional. *Boletín de la Sociedad Española de Transfusión Sanguínea y terapia Celular*.2017 N° 96 17 (1) 13-15.
6. Método 3-10. Tratamiento de los glóbulos rojos con ditiotritol (DTT) o Bromuro de 2-aminoetilisotironio(AET). Manual Técnico AABB 2012 10070-1072. 17° edición. Asociación Americana de Bancos de Sangre. Asociación Argentina de hemoterapia e Inmunohematología.
7. Lorenzen H and col. Thirty-tree-day storage of dithiotritol-treated red blood cells used to eliminate Daratumumab interference in serological test. *Voxsanguinis* 2018;113: 686-693. *International Journal of Transfusion Medicine*
8. Cushing MM, De Simone RA, Goel R. The impact of Daratumumab on transfusion service costs. *Transfusion*. 2019 Apr;59(4):1252-1258. doi: 10.1111/trf.15134. Epub 2019 Jan 8.



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.

Sospecha y manejo de la refractariedad plaquetaria

Suspicion and management of platelet refractoriness

Rabinovich OM

Hospital Británico de Buenos Aires

oscarabinovich@yahoo.com.ar

orabinovich@hbritanico.com.ar



**MANEJO
INTERDISCIPLINA-
RIO DE LA TRANSFU-
SIÓN**

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario

XXIV Congreso Argentino

de Hematología: 116-122

Octubre 2019

Palabras claves: refractariedad plaquetaria,
Ag. HLA,
porcentaje de recuperación
plaquetaria.

Keywords: platelet refractorines,
HLA Ag.,
percentage platelet recovery.

La refractariedad plaquetaria es una de las complicaciones inducidas por las transfusiones de plaquetas que, en ocasiones, puede resultar muy grave. En general se acepta que el paciente es refractario cuan-

do luego de transfundir dos unidades consecutivas ABO compatibles de extracción reciente (menos de 48-72 hs.) no se produce el incremento esperado en la cifra de plaquetas⁽¹⁻²⁾.

Para valorar la respuesta transfusional se pueden optar por diferentes índices

- Incremento postransfusional (PI: *post-transfusion increment*):

Conteo plaquetario post-Tx - Conteo plaquetario pre-TX

- 2- Porcentaje de recuperación (PPR: *percentage platelet recovery*)

PI x volumen sanguíneo en litros x dosis de plaq. transf. x 10^{11} x 100

- Incremento corregido (CCI: *corrected count increment*)

PI x superficie corporal en m² x dosis de plaq. transf. x 10^{11}

Por lo tanto se considera refractariedad plaquetaria según qué parámetro sea utilizado:

PI: Aumento menor a 10×10^9 de recuento plaquetario luego de 1 hora de infundido.

PPR: < del 20 al 30% a la hora de la transfusión o < 20% a las 20-24 hs.

CCI < 7.500 y PR < 20-30% 1 h después; CCI < 4.500 y PR < 20% 18-20 h después.

Las causas que la determinan pueden ser dependientes del paciente (inmunitario y no inmunitario) o del producto transfundido.

Factores no inmunitarios

Habitualmente están presentes varios factores en un mismo paciente al mismo tiempo.

Fiebre e infección

La frecuencia de refractariedad observada varía entre el 18 % al 27 % aproximadamente^(3,4).

En el curso de la infección, las plaquetas exponen en su superficie criptoantígenos a los que van a fijarse anticuerpos que propician la destrucción de las mismas a su paso por el sistema mononuclear-fagocítico.

Asimismo, en las situaciones tanto de infección como de sepsis se produce un aumento de la tasa de IgG asociada a la plaqueta que puede favorecer la posterior destrucción de las mismas e incide directamente en su supervivencia, pudiendo afectar desde el 20-40% el incremento postransfusional⁽⁵⁻⁶⁾.

Por lo tanto, esto conlleva a que la concentración de inmunocomplejos circulantes es inversamente proporcional al incremento postransfusional. Ellos se unen a los receptores FcγII de las plaquetas y, una vez recubiertas, se produce su destrucción en el sistema mononuclearfagocítico⁽⁷⁻⁹⁾.

Coagulación intravascular diseminada (CID)

Existen variadas causas que conllevan a un estado de hipercoagulabilidad desencadenando una CID. Desde el punto de vista oncohematológico la leucemia promielocítica aguda produce un aumento de la actividad fibrinolítica secundario a la liberación tumoral de factores procoagulantes, activadores del plasminógeno y elastasa leucocitaria que generan un importante consumo plaquetario.

Esplenomegalia

El bazo suele almacenar en forma fisiológica cerca de una tercera parte de las plaquetas producidas en la médula ósea (28%). Lo mismo sucede con las plaquetas transfundidas, pudiendo, en casos de es-

plenomegalia, llegar a no permitir un incremento mayor al 15-20%⁽¹⁰⁾.

Enfermedad injerto vs huésped (EICH)

La enfermedad del injerto contra el huésped, agudo o crónico, y la infección por citomegalovirus⁽¹¹⁻¹²⁾ se acompañan también de un incremento de la tasa de IgG asociada a la plaqueta⁽¹²⁾ que favorece su posterior destrucción. La irradiación, los citostáticos, los factores de crecimiento y los fármacos inmunomoduladores empleados en la prevención de la EICH producen una vasculopatía que puede contribuir a aumentar el consumo de plaquetas.

Fármacos

La etiopatogenia de la refractariedad plaquetaria asociada a fármacos responde a diferentes mecanismos: toxicidad medular, destrucción plaquetaria inmunitaria y no inmunitaria.

Los antibacterianos y antifúngicos, habitualmente empleados en los pacientes oncohematológicos (penicilina, anfotericina B, vancomicina), son los más comunes. La anfotericina B puede reducir el incremento postransfusional entre un 30 a un 78%⁽¹³⁾, pero no todos los pacientes que la reciben presentan refractariedad⁽¹¹⁾. Es de buena práctica transfundir plaquetas alejado del fármaco, ya que se vio aumento de la frecuencia cuando el tiempo de infusión del fármaco era cercano a la transfusión plaquetaria. Otras drogas utilizadas en pacientes inmunocomprometidos pueden inducir a un descenso en el incremento plaquetario: heparina 18%, ciprofloxacina, diuréticos y ciclosporina 4,5% cada una.

Factores inmunes

La membrana plaquetaria expresa antígenos del sistema ABO, Lewis, P e I

A su vez coexisten con el sistema HLA de clase I y antígenos plaquetarios específicos perteneciente al sistema HPA.

Anticuerpos HLA

Son los más frecuentes en la etiología de refractariedad plaquetaria de causa inmune. Se estima que la inmunización se encuentra entre el 3,9% y el 42%⁽¹⁴⁾, siendo la media en países desarrollados cercana al 25%.

Esta disparidad puede explicarse por diferencias tanto en la selección de pacientes como donantes y en los procedimientos técnicos implementados en donde la leucorreducción universal prealmacenamiento es el factor excluyente. En los años sesen-

HPA-1b y anti HPA-5b.

Anticuerpos ABO

Al transfundir concentrados de plaquetas ABO incompatibles aproximadamente un 20% de las mismas son eliminadas de inmediato, siendo esta proporción aún mayor si el paciente presenta títulos altos de isohemoaglutininas ABO de clase IgG antes de la primera transfusión o como consecuencia de transfusiones ABO incompatibles previas, pudiendo incluso presentar reacciones hemolíticas de variada intensidad.

Para disminuir este riesgo se sugiere, de no ser posible la transfusión isogrupo, desplasmatizar y resuspennder en solución fisiológica, con la pérdida adicional de plaquetas por esta manipulación.

Actualmente se puede disminuir fuertemente la concentración de plasma de los concentrados entre un 70 a 95%⁽²⁰⁾ (plaquetas hiperconcentradas), supliéndola con una solución aditiva de plaquetas, sin interferir en el rinde plaquetario. De esta forma se optimiza el recupero plaquetario postransfusional debido a que, de existir en el inóculo a transfundir anticuerpos HLA que potencialmente podrían bloquear a plaquetas del receptor que presentan ese antígeno, estarían disminuidas a su máxima expresión.

Sexo

Existen trabajos⁽²¹⁻²²⁾ en donde se describen un incremento del fenómeno de refractariedad en el sexo femenino, explicado, entre otras cosas, por la aloinmunización secundaria a los embarazos. Sin embargo, hay otros⁽²³⁾ en donde la *p* no es estadísticamente significativa, en donde no existen diferencias en cuanto al sexo entre pacientes que desarrollaron refractariedad y los que no lo hicieron.

Factores dependientes del producto

El número de plaquetas obtenidas de donantes está en relación directa a la variabilidad dada por la concentración que cada uno de ellos aporta, ya que los valores normales van de 150 a 350 x10³/mm³.

Sin embargo, la concentración media aceptable es de 6 x 10¹⁰/mm³ (rango de 4 a 8 x10¹⁰/mm³). Con los métodos automatizados de procesamiento de sangre entera⁽²³⁻²⁴⁾ se obtienen concentraciones superiores en donde la media es cercana a 8 x 10¹⁰/mm³.

En cuanto al procesamiento de donante único de aféresis, el valor mínimo aceptado como producto óptimo es 3 x 10¹¹/mm³. Según determinadas varia-

bles (peso, altura y concentración de plaquetas) se puede incrementar la colecta logrando doble o triple producto del mismo donante. (6 o 9 x 10¹¹/mm³), disminuyendo por lo tanto la carga antigénica que recibirá el receptor y disminuyendo significativamente la posibilidad de refractariedad plaquetaria.

Otro factor a tener en cuenta es la “edad de las plaquetas” y la “lesión por conservación”. Las plaquetas de menos de 48 hs. de extraídas tienen mayor viabilidad.

En lo que respecta a la lesión por conservación, consiste en una alteración metabólica y estructural que se produce por el fraccionamiento sanguíneo, como así también por un mayor grado de activación plaquetaria y, en los casos de incompatibilidad ABO, la manipulación adicional de las plaquetas antes de la transfusión para reducir volumen o filtrar, aumenta la lesión de conservación.

Diagnóstico de refractariedad plaquetaria

Como se mencionó previamente, se sospecha la misma a través de los diferentes índices citados (incremento postransfusional, porcentaje de recuperación e incremento corregido).

Investigar la presencia de los diferentes factores clínicos que afectan preferentemente a la supervivencia de las plaquetas: fiebre, sepsis, esplenomegalia, CID, EICH y fármacos, como etiologías más frecuentes dentro de los factores no inmunológicos. Es lo más frecuente en aquellos centros en donde se realiza leucodepleción universal prealmacenamiento.

En nuestro país la inmensa mayoría de los centros regionales y bancos de sangre intrahospitalarios al no realizarse previo al almacenamiento la filtración de leucocitos, la causa inmune es la más frecuente, llegando a presentar cifras cercanas al 80%-90% asociadas a anticuerpos HLA y, en menor medida, a anticuerpos específicos plaquetarios (HPA) sin tener registros confiables, ya que no se realiza de rutina la búsqueda de refractariedad plaquetaria (subregistro).

Existen diferentes metodologías específicas para la identificación del tipo de anticuerpo hacia el cual está dirigido⁽²⁵⁾. Para la identificación de anticuerpos HLA se realizan diferentes técnicas: citometría de flujo, prueba de linfocitotoxicidad o de inmunofluorescencia linfocítica y ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas.

Para identificar anticuerpos HPA el más específico

es el de inmovilización de antígenos con anticuerpos monoclonales (MAIPA).

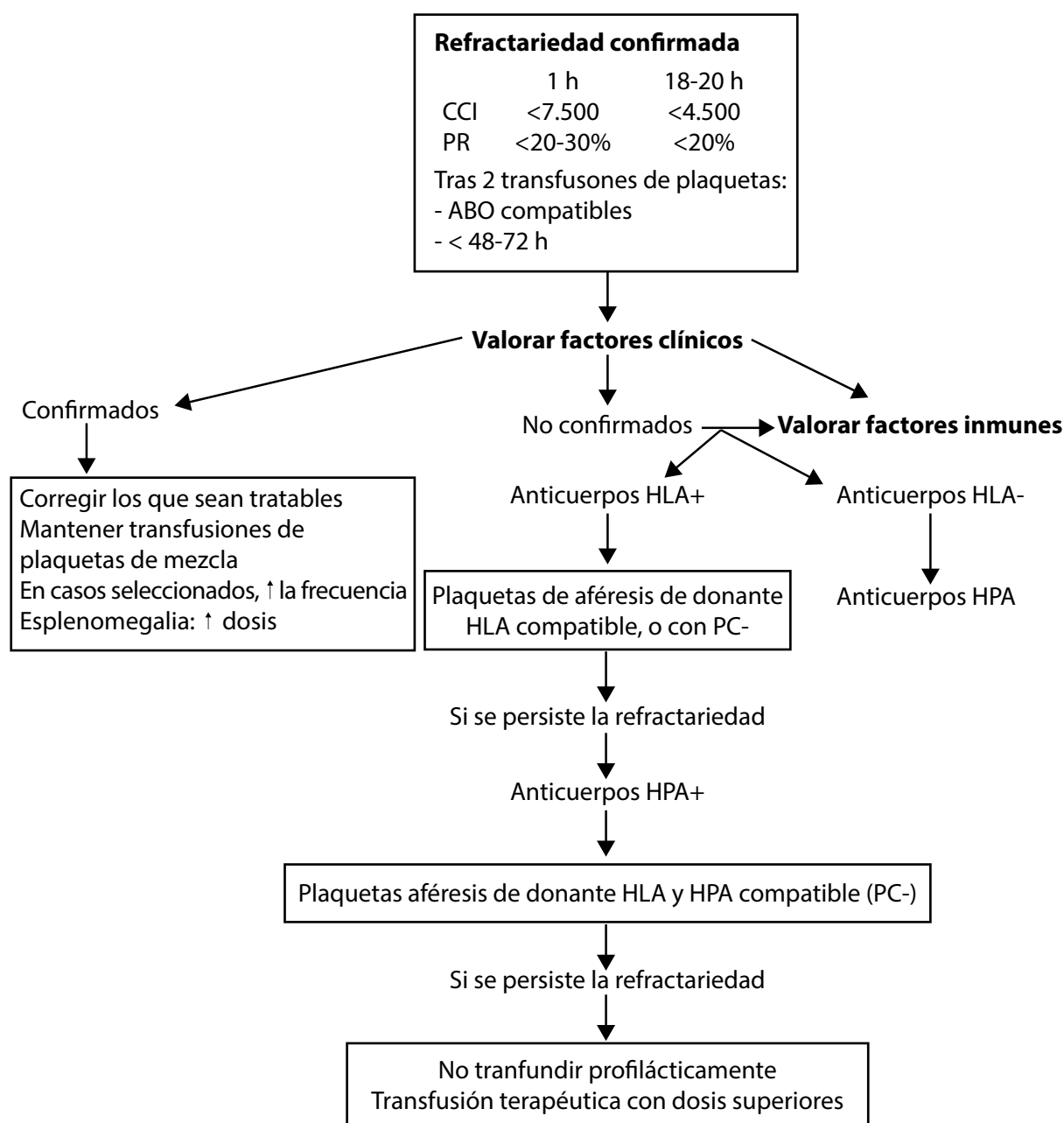
Conducta transfusional ante refractariedad plaquetaria

En el algoritmo propuesto por el Dr. Muñiz Díaz⁽²⁶⁾ para el Banco de Sangre Sant Pau-Creu la gran mayoría de los casos de refractariedad son secundarios a factores clínicos (aproximadamente el 80%) y es exiguuo el correspondiente a causas inmunes⁽²⁷⁾ (HLA, HPA y ABO). Distintos centros europeos tienen estadística similar. Ante la presencia rara de factores inmunes, identifican el anticuerpo causal

y transfunden unidades de aféresis HLA compatibles⁽²⁸⁻²⁹⁾ y, de persistir la refractariedad, realizan la búsqueda de anticuerpos HPA y transfunden unidades HPA compatibles, manteniendo un criterio restrictivo en lo que respecta a “transfusiones profilácticas”.

Se entiende que, a pesar de la complejidad que implica este cuadro, contando con las herramientas diagnósticas y terapéuticas mencionadas podríamos lograr un alto porcentaje de respuesta favorable.

Sin embargo, en nuestro medio, lamentablemente es



la excepción, ya que no es de fácil acceso la identificación de los factores inmunológicos (Ac. HLA/HPA), sino que tampoco se realiza tipaje HLA plaquetaria a los donantes de aféresis, con lo cual carecemos de una base de datos para solucionar esta problemática. Por lo tanto, debemos tener como objetivo principal la prevención de la refractariedad plaquetaria.

La Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología⁽²⁷⁾ confeccionó en el año 2007 las "Guías Nacionales para el Uso Apropiado de la Sangre y sus Componentes" con grados de recomendación y evidencia científica. Es así que plantea transfundir concentrados plaquetarios ABO compatibles de menos de 48 hs de extraídas (1B).

En casos de aloinmunización realizar anticuerpos HLA⁽²⁸⁻²⁹⁾ y eventualmente HPA (2B) para búsqueda

de unidad compatible (2B). En caso de no encontrar unidades compatibles -siendo esto lo más factible en nuestro medio- administrar dosis más altas de donantes múltiples (1C). De esta forma se trata de bloquear los anticuerpos circulantes y mantener al paciente con niveles aceptables.

Se ha intentado la administración de Inmunoglobulina G endovenosa a razón de 0,4 mg/kg/día por 5 días⁽³¹⁾ con resultados dispares, al igual que la esplenectomía, ácido tranexámico⁽³⁰⁾ o recambio plasmático masivo con grado de recomendación y evidencia científica menor (2C)⁽³²⁾.

En resumen, la refractariedad plaquetaria es un problema frecuente para el cual existen conductas preventivas que los Servicios de Medicina Transfusional modernos deberían implementar siempre.

Conflictos de interés: El autor declara no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

1. Benson K. Criteria for diagnosing refractoriness to platelet transfusions. En: Kickler TS, Herman JH, editors. Current issues in platelet transfusion therapy and platelet alloimmunity. Bethesda: AABB Press, 1999 : 33-61.
2. Novotny VMJ. Prevention and management of platelet transfusion refractoriness. Vox Sang. 1999; 76: 1-13.
3. Bishop J, Mathews J, Yuen K, McGrath K. The definition of refractoriness to platelet transfusion. Transfusion Med. 1992; 2: 35-41.
4. Muñiz E, Martínez C, Madoz P. Refractariedad a las transfusiones de plaquetas. Med Clin (Barc). 2003; 120: 544-549.
5. Li G, Liu F, Mao X, Hu L. The investigation of platelet transfusion refractory in 69 malignant patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. Transfus Apher Sci. 2011; 45:21-24.
6. Dos Santos JV, Andrade MR, Jens E, Nukui Y, Ficher DA. Frequency of human platelet antigens in oncohematological patients with thrombocytopenia and the probability of incompatibility to platelet transfusions. Rev Bras Hematol Hemoter. 2012; 34(3): 202-05.
7. Kutti J, Zaroulis CG, Safai-Kutti S, Dinsmore RE, Day NK, Good RA. Evidence that circulating immune complexes removed transfused platelets from the circulation. Am J Haematol. 1981; 11: 255-258.
8. Huang Z, Chien P, Indik Z, Schreiber A. Human Platelet FcγRIIA and Phagocytes in Immune-Complex Clearance. Mol Immunol. 2011; 48: 691-696.
9. Pavensky K, Freedman J, Semple JW. HLA alloimmunization against platelet transfusions: pathophysiology, significance, prevention and management. Tissue Antigens. 2012; 79: 237-245.
10. Doughy HA, Murphy MF, Metcalfe P, Lister TA, Waters AH. Relative importance of immune and non-immune causes of platelet refractoriness. Vox Sang. 1994; 66:200-205.
11. Hebart H, Einsele H, Klein R, Fischer I, Bühler S, Dietz K et al. CMV infection after allogeneic bone marrow transplantation is associated with the occurrence of various autoantibodies and monoclonal gammopathies. Br J Haematol. 1996;95:138-144.
12. Anasetti C, Rybka W, Sullivan KM, Banaji M, Slichter

- SJ. Graft versus host disease is associated with autoimmune like thrombocytopenia. *Blood*. 1989;73:1054-1058.
13. Muñiz E, Martínez C, Madoz P. Refractoriedad a las transfusiones de plaquetas. *Med Clin (Barc)*. 2003; 120: 544-549.
 14. Böck M, Muggenthaler K-H, Schmidt U, Heim MU. Influence of antibiotics on postransfusion platelet increment. *Transfusion*. 1996; 36: 952-954.
 15. Juskewitch JE, Norgan AP, De Goey SR, Duellman PM, Wakefield LL, Gandhi MJ, Stubbs JR, Kreuter JD. How do I ... manage the platelet transfusion-refractory patient? *Transfusion*. 2017 Dec;57(12):2828-2835.
 16. Alcorta I, Pereira A, Ordinas A. A clinical and laboratory factors associated with platelet transfusion refractoriness: a case control study. *Br J Haematol*. 1996; 93: 220-224.
 17. Shastri S, Chaudhary R. Clinical factors influencing corrected count increment. *Transfus Apher Sci*. 2012; 47: 327-330.
 18. L. Johnson, K. M. Winter, M. Kwok, S. Reid & D. C. Mark. Evaluation of the quality of blood components prepared using the Reveos automated blood processing system. *Vox Sanguinis*. 2013; 05: 225-235.
 19. Curtis BR, Macfarland JG Review Human Platelet Antigens. *Vox Sanguinis*. 2014 ;106: 93-102.
 20. J. Ringwald, S. Walz, R. Zimmermann, J. Zingsem, E. Strasser, V. Weisbach & R. Eckstein. Hyperconcentrated platelets stored in additive solution: aspects on productivity and in vitro quality. *Vox Sanguinis*. 2005; 89: 11-18.
 21. Moncharmont P, Rigal D. Prevalence of platelet-specific antibodies in the recipients of platelet units with transfusion adverse event. *Transfus Clin Biol*. 2012; 19:333-337.
 22. Slitcher J, Davis K, Enrigh H, Braine H, Gernsheimer T, Jang Kao K et al. Factors affecting posttransfusion platelet increments, platelet refractoriness, and platelet transfusion intervals in thrombocytopenic patients. *Blood*. 2005; 105: 4106-4114.
 23. Louis Thibault, Annie Beauséjour, Marie Joëlle de Grandmont. Characterization of blood components prepared from whole-blood donations after a 24-hour hold with the platelet-rich plasma method. *Transfusion*. 2006; 46: 1293-1299.
 24. Pietersz, R. Pooled platelet concentrates: An alternative to single donor apheresis platelets? *Transfusion and Apheresis Science*. 2009; 41: 115-119.
 25. Rojas, SA y col. Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia. 2017; 33: 41-53.
 26. Muñiz Diaz y col. Refractoriedad a las transfusiones de plaquetas. *Med Clin (Barc)*. 2003; 120: 544-549.
 27. Lawrence D. Petz, George Garratty, Loni Calhoun, Bill D. Clark, Paul I. Terasaki, Christopher Gresens, Jeffrey A. Gornbein, Elliot M. Landaw, Randy Smith and J. Michael Ceck. Selecting donors of platelets for refractory patients on the basis of HLA antibody specificity. *Transfusion*. 2000; 40: 1446-56.
 28. C. O’Raerty, G. Rooney, R. Hagan, M. Woolfson, D. O’Donghaile & J. Fitzgerald. HLA Matchmaker is effective for selecting appropriate platelet units for alloimmunised thrombocytopaenic patients who are refractory to random donor platelets. *Transfusion Medicine*. 2017; 27: 369-374.
 29. Benjamin Rioux-Massé, Claudia Cohn, Bruce Lindgren, Shelly Pulkrabek, Jeffrey McCullough. Utilization of cross-matched or HLA-matched platelets for patients refractory to platelet transfusion. *Transfusion*. 2014; 54: 3080-3087.
 30. Frank H. Gardner, MD, Richard E. Helmer III, M. Aminocaproic Acid Use in Control of Hemorrhage in Patients With Amegakaryocytic Thrombocytopenia. *JAMA*. 1980; 243: 35-37.
 31. C Knupp, JK Chamberlain and SO Raab. High-dose intravenous gamma globulin in alloimmunized platelet. *Blood*. 1985; 65: 776-781.
 32. Del Pozo, A., Kuperman, S. Guías Nacionales para el Uso Apropiado de la Sangre y sus Componentes. *Revista Argentina de Transfusión*. 2007;XXXIII: 193-285.



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.

Discontinuación del tratamiento en leucemia mieloide crónica. ¿Estamos preparados?

Treatment discontinuation in chronic myeloid leukemia:
Are we ready?

Pavlovsky C¹, Moiraghi B², Bianchini M³, Bullorsky L⁴,
Oszycka V⁵, Freitas MJ⁶, Bengio R⁷, Larripa I⁸,
Riveros D⁹, Varela A¹⁰

En representación de la Subcomisión de Leucemia Mieloide Crónica de
la Sociedad Argentina de Hematología.

¹ FUNDALÉU

² Hospital J.M Ramos Mejía, Ciudad de Buenos Aires.

³ CIO-FUCA. Instituto A. Fleming.

⁴ Hospital Británico, Ciudad de Buenos Aires.

⁵ Hospital J.M. Ramos Mejía, Ciudad de Buenos Aires.

⁶ Hospital Nac. Prof. Alejandro Posadas, Buenos Aires.

⁷ IIEMA. Academia Nac. Medicina.

⁸ Lab. Genética Hematológica. IMEX, CONICET-Academia Nac. Medicina.

⁹ CEMIC, Ciudad de Buenos Aires.

¹⁰ Hospital J.M. Ramos Mejía, Ciudad de Buenos Aires.

cpavlovsky@fundaleu.org.ar



DISCONTINUACIÓN
DEL TRATAMIENTO
EN LMC. ¿ESTAMOS
PREPARADOS?

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 123-130
Octubre 2019

Palabras claves: LMC,
monitoreo molecular,
discontinuación de tratamiento.

Keywords: CML,
molecular monitoring,
treatment discontinuation.

Introducción

El pronóstico de los pacientes con leucemia mieloide crónica (LMC) que se presentan en fase crónica (FC) ha cambiado drásticamente desde la introducción de los inhibidores de tirosina kinasa (ITK). La disponibilidad de estas drogas, asociada a un monitoreo molecular estandarizado y a la adopción de una intervención adaptada a la respuesta, marcó para estos pacientes un cambio radical en su evolución, permitiendo alcanzar altas tasas de respuestas moleculares profundas (RMP) y una sobrevida comparable a la población general. Por este motivo, el nuevo foco de atención viró hacia la calidad de vida y a minimizar el riesgo de toxicidades asociadas al uso crónico de ITK, por lo que la remisión libre de tratamiento (RLT) se ha convertido en un objetivo en la actualidad. La RLT luego de interrumpir el tratamiento con ITK es una meta posible para pacientes con LMC-FC.

Los pacientes pueden estar motivados para suspender el tratamiento por razones que incluyen alivio de los efectos secundarios del tratamiento, la posibilidad de intentar el embarazo de manera segura o el deseo de otras mejoras potenciales en la calidad de vida relacionada con la salud.

Las recomendaciones de la *European Leukemia Net* sugieren un tratamiento indefinido con ITK. No obstante, las guías americanas, (*National Comprehensive Network* 2019), reconocen que un subgrupo de pacientes cuidadosamente seleccionado, que logra respuesta molecular profunda y sostenida y cumple con los criterios propuestos por dichas recomendaciones, podría interrumpir el ITK, manteniendo RLT.

Esto se demostró por primera vez en el estudio STIM1, donde el 36% de los pacientes que habían logrado una RMP sostenida (con BCR-ABL1 indetectable durante ≥ 2 años) bajo tratamiento con

imatinib a largo plazo logra sostener la respuesta molecular mayor (RMM) 1 año después de discontinuar el tratamiento. Este estudio sentó precedentes para una lista creciente de ensayos de discontinuación de los ITK. El estudio EURO-SKI -el mayor ensayo de RLT hasta la fecha- incluye pacientes que lograron RMP sostenida (específicamente, MR4.0 [$\text{BCR-ABL1IS} \leq 0.01\%$] durante ≥ 1 año) con imatinib, nilotinib o dasatinib. Otros ensayos en curso investigan específicamente la RLT después del tratamiento con ITK de segunda generación.

La cuantificación del transcrito quimérico BCR-ABL1 es indispensable para el seguimiento molecular de los pacientes y sólo una minoría de ellos alcanza el status de “enfermedad mínima residual indetectable”. Sin embargo, en estos pacientes no queda claro aún cuándo podrían considerarse curados definitivamente, ya que los estudios publicados describen que aproximadamente un 40%, logra mantener la RMP luego de la interrupción del tratamiento, ocurriendo las recaídas principalmente dentro de los primeros 6 meses, no obstante estos pacientes logran recuperar la RMP una vez reintroducido el tratamiento.

Ha sido ampliamente demostrado que las células más primitivas (células madre leucémicas) son resistentes a los ITK y serían la causa de la persistencia del clon leucémico, representando el último obstáculo para la erradicación de la enfermedad. A pesar de esto, el sistema inmune permitiría mantener la respuesta molecular, sin la necesidad de erradicar definitivamente la leucemia, siendo hoy la interrupción del tratamiento una decisión viable. Aún no existen marcadores de pronóstico adecuados para identificar quiénes logran sostener la respuesta molecular a largo plazo.

Esta incertidumbre, sumado a la necesidad de un monitoreo molecular muy intensivo post-discontinuación, es un obstáculo para médicos y pacientes a la hora de tomar esta decisión. En Argentina, discontinuar ITK en el marco de un protocolo de investigación o bajo un programa de guía para médicos y pacientes permitirá que la remisión libre de tratamiento sea posible y segura.

La discontinuación de ITK en LMC podría beneficiar la calidad de vida, evitar toxicidades de los tratamientos y, sobre todo, permitiría optimizar los recursos económicos del sistema de salud, al reducir la cantidad de pacientes tratados con drogas de alto

costo, cuando este tratamiento se vuelve innecesario. En este contexto se diseñó el protocolo de discontinuación en Argentina en pacientes con LMC con el objetivo de identificar la proporción de pacientes que continúan en remisión molecular mayor luego de haber discontinuado el tratamiento y sin necesidad de reiniciarlo. El objetivo secundario está relacionado al estado del sistema inmunológico al momento de la discontinuación, cuantificando el clon leucémico residual a nivel de células madre leucémicas. Como objetivo terciario, y teniendo en cuenta la población en Argentina, se realizará un análisis fármaco-económico del impacto y ahorro en el sistema de salud.

En esta revisión intentaremos aclarar los criterios de selección de pacientes candidatos para la discontinuación, propuestos por distintos estudios y las tasas de RLT de los mismos. A su vez evaluaremos la importancia del rol del monitoreo molecular durante la discontinuación del tratamiento y cómo reiniciar el mismo ante la pérdida de respuesta molecular. Si bien en nuestro país esta práctica sólo se recomienda realizarla en el marco de un estudio de investigación, de los resultados de los ensayos en curso se desprenderán las futuras guías para el correcto tratamiento y suspensión adecuada.

Técnicas de monitoreo: lo que se viene

Para un correcto monitoreo molecular y selección de pacientes para la discontinuación del tratamiento, la escala internacional (IS, del inglés *International Scale*), representa un método práctico y teóricamente adoptable por cualquier laboratorio, capaz de mejorar significativamente la comparabilidad de los resultados de RT-qPCR de diferentes centros; sin embargo, para su adopción se requiere del cálculo de un factor de conversión (FC). Por tal motivo “*The first World Health Organization International Genetic Reference Panel for quantitation of BCR-ABL1 mRNA*” fue aprobado por una comisión de expertos de la WHO en 2009⁽⁴⁰⁾; este material de referencia universal está disponible como calibradores “primarios” de la WHO con el propósito de poder calcular el FC a la escala internacional. Sin embargo, la dificultad en producir este material biológico sumado a la gran demanda, obligó a la organización internacional a limitar la disponibilidad de los primarios solamente para aquellos centros que puedan producir calibradores “secundarios”. En Ar-

gentina desde hace 6 años existe un programa de armonización a la escala internacional que localmente posibilita a los laboratorios obtener su FC específico y, por lo tanto, alinearse a la IS. En la actualidad, muchos pacientes bajo tratamiento con ITKs alcanzan una respuesta molecular completa (RMC), persistente en el tiempo, sugiriendo la erradicación de la enfermedad. Sin embargo, es necesario remarcar que la no-detección del transcrito BCR-ABL1 no necesariamente significa erradicación del clon leucémico. Por esta razón es más correcto hablar de respuesta molecular indetectable, y definir el nivel de respuesta molecular teniendo en cuenta la sensibilidad que se pudo alcanzar en la medición de la muestra (p.ej. RM 4.0, RM 4.5 y RM 5.0)⁽⁸⁾. Estas observaciones tienen un importante impacto clínico con respecto a la posibilidad de discontinuación de la droga; estos datos sugieren que los ITKs son capaces de controlar la enfermedad, a través de la inhibición de la proliferación de células en división, pero son incapaces de eliminar el clon leucémico madre.

Recientemente, Chomel y col.⁽³⁻⁵⁾ demostraron la persistencia de células madre leucémicas, aún en pacientes con RMP e indetectable, que además expresan niveles significativamente menores de BCR-ABL1 con respecto a los mismos compartimentos celulares provenientes de pacientes resistentes a los ITKs. Un trabajo recientemente publicado por nuestro grupo⁽³⁵⁾ reafirma estas observaciones, demostrando que en las células más primitivas (LSCs) habría una reducción del transcrito quimérico todavía más pronunciada con respecto a las progenitoras, pudiendo representar un mecanismo que previene la eliminación del clon leucémico; esto sugiere también que en el contexto de la discontinuación son necesarios estudios moleculares que puedan capturar con mayor sensibilidad y precisión la enfermedad mínima residual. En este sentido estamos trabajando en la puesta a punto de un test genético personalizado a nivel de DNA genómico por PCR digital.

Otro aspecto importante de la biología de la LMC tiene que ver con las diferentes vías de escape utilizadas por las células leucémicas para evadir la inmunovigilancia. Al igual que en otros tumores, uno de estos mecanismos de escape consiste en la supresión de células del sistema inmunológico; efectivamente, al diagnóstico, los pacientes muestran una funcionalidad comprometida de las células NK

y linfocitos T (CD8+ y CD4+) debido a la expresión de receptores de muerte programada como PD-1 y un aumento en la fracción de células T-regulatorias y células supresoras derivadas de células mieloides. Estudios recientes sugieren que el sistema inmunológico podría jugar un papel importante para el control de las LSC residuales luego de la discontinuación del tratamiento. Un estudio francés recientemente publicado denominado IMMUNOSTIM sobre 51 pacientes del ensayo clínico STIM demostró que los pacientes que pudieron sostener la remisión molecular sin tratamiento, al momento de la discontinuación, eran aquellos con un número significativamente más alto de células-NK (CD56dim), mientras que los NK CD56bright y células-T no diferían significativamente. Estos resultados sugieren que las células NK podrían jugar un rol importante en el control de las LSC luego de la suspensión de la terapia; sin embargo, son necesarios estudios ulteriores para descifrar los mecanismos que subyacen a las diferencias funcionales de las células NK e identificar subpoblaciones linfocitarias que se asocian de manera más específica con una discontinuación segura de la terapia.

Estudios de discontinuación

Varias razones pueden motivar a los pacientes a suspender la terapia con ITK. Es importante destacar que mejorar su calidad de vida puede proporcionar una justificación suficiente para la consideración de RLT. Los pacientes más jóvenes pueden ser impulsados por un deseo de disminuir el potencial de eventos adversos futuros, o por deseo de un embarazo, mientras que los pacientes mayores pueden tratar de mitigar los eventos adversos que experimentan actualmente. Algunos pacientes pueden considerar el costo del tratamiento durante sus vidas como una motivación para esto.

Poblaciones especiales:

1. Una preocupación importante en el tratamiento de pacientes pediátricos con LMC es la seguridad ante la administración prolongada a ITK. Por tal motivo, ésta es una población en la que puede haber un interés particular en la suspensión del tratamiento, pero los datos en este contexto son considerablemente limitados; la interrupción del tratamiento en los niños es controvertida.
2. Las pacientes en edad fértil pueden beneficiarse

particularmente de la RLT en el objetivo de lograr un embarazo.

Si bien la mayor motivación para la suspensión es evitar los efectos adversos de los ITK (ya sean presentes o futuros), se debe tener en cuenta la existencia del síndrome de abstinencia, cuya incidencia reportada varía también entre los distintos estudios de discontinuación. Éste consiste en mialgia difusa, artralgia o dolor musculoesquelético, los que suelen responder a tratamiento con esteroides u otros analgésicos. Los síntomas pueden ser lo suficientemente graves como para justificar la reanudación de la terapia, por lo que se debe informar a los pacientes de manera realista sobre la existencia de este síndrome a fin de evitar la frustración de ser necesario el re-inicio de los ITK.

Las consideraciones económicas pueden desempeñar un papel clave en la decisión del paciente o del sistema de salud en intentar la RLT, ya que los nuevos tratamientos para LMC presentan mayor costo. Idealmente, los pacientes no deben estar motivados para optar por la discontinuación por factores económicos, pero en la actualidad, esto representa una consideración tanto para muchos pacientes como terceros involucrados.

Los resultados de varios ensayos de discontinuación de imatinib a largo plazo, incluido el estudio STIM, han demostrado que aproximadamente la mitad de los pacientes con respuestas moleculares profundas y sostenidas pueden mantener con éxito sus respuestas después de ingresar a los estudios de suspensión. En dicho estudio, sólo ingresaron pacientes con al menos 3 años de tratamiento con imatinib, y al menos 2 años de respuesta molecular indetectable (con una sensibilidad de RQ PCR con al menos 4.5 log). Se observó que la supervivencia libre de recaída molecular luego de 60 meses de discontinuación de ITK fue del 36%. El análisis mostró que los pacientes con más de 54 meses de tratamiento con imatinib presentaban un riesgo de recaída molecular significativamente menor que aquéllos con tratamientos más cortos. También los pacientes con riesgo de Sokal bajo o intermedio mostraron altas chances de permanecer libres de tratamiento comparados con los de Sokal alto. En general, todos los pacientes que recayeron bajo suspensión del tratamiento continuaron siendo sensibles a los ITK y recuperaron la respuesta molecular tras el re-tratamiento. La mayor tasa de recaídas se observó en

los primeros 6 a 12 meses. Este estudio sentó precedentes para una lista creciente de ensayos de discontinuación de los ITK.

El estudio DASFREE examinó la interrupción de dasatinib en primera y segunda línea en pacientes que mantuvieron RMP (definido como RM 4.5) durante al menos un año. 51% (N= 84) mantuvieron RLT evaluado al año luego de la discontinuación. Así mismo, todos los pacientes que presentaron recaídas moleculares recuperaron la RMM rápidamente luego de reiniciado el tratamiento.

En el estudio multicéntrico japonés DADI, la discontinuación de dasatinib era elegible para aquellos pacientes con LMC en fase crónica en respuesta molecular profunda por al menos un año previo a la suspensión y ha reportado una tasa de RLT de 44,4% a los 3 años.

El estudio ENESTfreedom evaluó a 190 pacientes tratados en 1ra línea con nilotinib al menos por 3 años que obtuvieron RMP (definida como RM 4.5) al menos un año previo a la discontinuación de ITK. Se observó una tasa de RLT de 49% a las 96 semanas. De los 88 pacientes que reiniciaron nilotinib luego de pérdida de RMM, 87 volvieron a obtener RMM Y 81 adquirieron RM 4.5 al momento del cierre del análisis. Las tasas de RLT fueron 61, 50, 28.6% en pacientes con índice de Sokal bajo, intermedio y alto al diagnóstico, respectivamente.

En el ENESTop, el criterio requerido para la suspensión era mantener una RM 4.5 durante al menos 2 años en aquellos pacientes que utilizaron nilotinib como segunda línea de tratamiento, luego del tratamiento con imatinib. De los 163 pacientes incluidos en el estudio, un 58% permaneció en RLT en la semana 48. Un sub-análisis basado en los motivos para rotar el tratamiento a la segunda línea antes de la suspensión, demostró que 40% rotaron por intolerancia, 24% por resistencia y 36% por preferencia del médico. La proporción de RLT a las 48 semanas fue similar en todos los grupos: 30 (58.8%) en el subgrupo de intolerancia, 16 (53,3%) en el subgrupo de resistencia y 27 (61,4%) en el subgrupo de preferencias del médico tratante.

En el estudio EURO-SKI se reclutaron pacientes tratados con imatinib, nilotinib o dasatinib en primera línea que mantuvieron una RM 4.0 por al menos 1 año. En 755 pacientes elegibles, la tasa de RLT fue del 50% a los 24 meses. Los factores pronósticos relevantes analizados fueron la edad al momento

del diagnóstico, índice de riesgo, tratamiento previo con interferón, duración del tratamiento con ITK, profundidad de la respuesta molecular y duración de la misma previa a la suspensión. Éstos dos últimos demostraron ser los de mayor valor predictivo a la hora de optar por la discontinuación de ITK.

Situación actual en Argentina

El contexto en que se realizaron los estudios reportados y para el cual se redactan las recomendaciones internacionales difiere en gran medida con nuestra realidad local. Ofrecer la RLT a los pacientes con LMC es un gran avance, pero es de vital importancia valorar la información de estudios clínicos y recomendaciones en forma rigurosa antes de la toma de decisiones.

En Argentina, así como en el resto de América Latina, enfrentamos muchas veces problemáticas similares en la práctica clínica diaria. El trabajo en equipo, el desarrollo de guías locales, la educación continua y el acceso a un monitoreo adecuado puede asegurar que sea posible un manejo óptimo para cada paciente con LMC en nuestro país.

La RLT puede ser una gran oportunidad para algunos pacientes, pero también consideramos que debe garantizarse una selección adecuada y un monitoreo óptimo para realizarla de forma segura, de lo contrario puede conllevar a la pérdida del control de la enfermedad.

El monitoreo estricto y más frecuente recomendado para hacer factible la RLT aún no se ha establecido como práctica reconocida por las compañías aseguradoras de salud y no es posible realizarlo en hospitales públicos aún. El reinicio inmediato de ITK puede ser un problema en el contexto local.

Con el propósito de enfrentar estos problemas, hemos diseñado un estudio de investigación para hacer que la RLT sea una opción para los pacientes en Argentina. Tendrá como objetivo conocer la tasa de RLT de la población e identificar un patrón inmunológico que permita reconocer aquellos pacientes que mantendrán la respuesta molecular sin tratamiento, mejorando significativamente la probabilidad de éxito de la RLT.

Este estudio, iniciado por investigadores locales independientes, es el resultado de un gran esfuerzo realizado para permitir que la discontinuación sea una opción para los pacientes con LMC en Argentina. Se han requerido fondos para traslado de mues-

tras en todo el país, monitoreo molecular y gastos administrativos, lo que determina que el número de pacientes que se pueden incluir es limitado. Se han organizado aspectos normativos, logísticos y clínicos. Como tercer objetivo del estudio se contempla además realizar un análisis fármaco-económico que pretende reflejar el impacto de la discontinuación de estas drogas de alto costo.

¿Estamos listos para adoptar RLT en Argentina? La interrupción de ITK en el marco de un protocolo de investigación permite que la RLT sea posible en nuestro país en forma segura. El estudio contempla el monitoreo molecular por RT-qPCR de manera sistemática, intensiva y estandarizada, de acuerdo con las pautas establecidas internacionalmente, para garantizar la seguridad del paciente.

La identificación de variables basadas en la evidencia para identificar a los pacientes en los que la discontinuación tendrá éxito es crucial. Un aspecto importante relacionado con la posibilidad de mantener la RLT es el papel desempeñado por el sistema inmune. En el momento del diagnóstico, las células leucémicas causan una supresión inmune profunda. Durante el tratamiento con ITK, la respuesta del efector inmune se restaura a niveles normales en pacientes que alcanzan RLT y, lo que es más importante, se mantienen en pacientes con RLT. Además, hay datos preliminares de que los pacientes con LMC que sostienen con éxito la RLT tienen un mayor número y función de células NK en comparación con aquéllos que recaen, lo que respalda la importancia de la reactivación de la vigilancia inmune para lograr la RLT sostenida. Teniendo en cuenta que hasta ahora los niveles de BCR-ABL1 en el momento de la interrupción no han sido capaces de predecir quién perderá la respuesta molecular luego de la discontinuación, planteamos la hipótesis de que un patrón umbral de las diversas respuestas del efector inmune podría identificar pacientes con LMC en los que sea factible la interrupción de ITK con remisión sostenida.

Con el fin de que la mayoría de los pacientes con LMC tenga la posibilidad de una RLT es nuestra responsabilidad: controlar y asegurar la adherencia a ITK, conocer tipo de transcripto, garantizar la eficacia del tratamiento mediante el logro de objetivos terapéuticos, tomando conducta en forma oportuna ante la falla de tratamiento y asegurando el monitoreo molecular con estudios moleculares

estandarizados según escala internacional desde el diagnóstico y durante el seguimiento son pasos necesarios para que la RLT pueda ser una opción real. Sabemos que en algunos lugares de nuestro país el acceso a todos estos pilares en los cuales se basa el tratamiento de la LMC y la RLT sigue siendo un desafío, por eso creemos que contar con un registro local brindaría información concreta para poder identificar cuáles son las necesidades de mejora en la comunidad que representan los médicos tratantes, pacientes y familiares con LMC en conjunto.

Criterios de inclusión del protocolo “Stop Argentina”

Los pacientes deben cumplir todos los criterios de inclusión:

1. Firma de consentimiento informado.
2. Pacientes con diagnóstico de LMC BCR-ABL1 positivo en FC tratados con ITK aprobados (imatinib, nilotinib o dasatinib) en 1ª línea o en 2ª línea debido a intolerancia a la 1ª línea.
3. Edad ≥ 18 años
4. ≥ 4 años de tratamiento con imatinib, nilotinib o dasatinib.
5. Evidencia de respuesta molecular profunda ($> RM 4.0$ en un laboratorio estandarizado (BCR-ABL1 IS $\leq 0.01\%$) sostenida durante ≥ 2 años, según lo documentado en al menos 4 pruebas realizadas con 3 meses de diferencia entre cada una como mínimo.
6. Evidencia de transcripto BCR-ABL1 típico cuantificable (b3a2 [e14a2] y / o b2a2 [e13a2], isoformas típicas de la p210)

Criterios de exclusión

Los pacientes no deben cumplir ninguno de los siguientes criterios:

1. Pacientes que discontinuaron previamente y demostraron recurrencia de la enfermedad.
2. Pacientes con falla a cualquier ITK en cualquier momento.
3. Pacientes que presentaron fase acelerada o LMC en crisis blástica en cualquier momento.
4. Pacientes con transcripto atípico no cuantificable por RT qPCR.
5. Mutación BCR-ABL detectada en cualquier momento durante el curso de la enfermedad resistente. Durante este estudio el monitoreo molecular se realizará mensualmente durante los primeros 6 meses de la discontinuación, luego cada 2 meses hasta el mes 12, luego trimestralmente. No realizar un mon-

itoreo adecuado después de la interrupción pone al paciente en riesgo de una recaída no identificada y no tratada oportunamente.

Conclusiones

Actualmente, la discontinuación de los ITK en pacientes cuidadosamente seleccionados (con RMP y sostenidas durante el tratamiento) es una realidad posible. Sin embargo, en numerosos estudios llevados a cabo en todo el mundo, que involucran a más de 2000 pacientes, se observó que sólo entre el 40-60% de los pacientes mantuvieron una RLT a lo largo del tiempo. Afortunadamente, la mayoría de los pacientes que perdieron la respuesta molecular profunda han recuperado la RMM una vez re-iniciado el tratamiento con ITK. Por este motivo resulta esencial la buena comunicación médico-paciente y la comprensión de ambas partes acerca del camino a iniciar, para poder plantear expectativas realistas y no generar frustraciones ante una eventual pérdida de la respuesta tras la discontinuación.

Cabe destacar que la mayoría de los pacientes que recayeron lo hicieron dentro de los primeros 6 meses. Es por ello que resulta fundamental un estricto control de la respuesta molecular mensual durante dicho período y continuar posteriormente por los plazos que establece la bibliografía documentada hasta el momento.

Por otro lado, no se debe minimizar el impacto económico que la suspensión de los ITK en pacientes seleccionados puede significar para el sistema de salud, especialmente en los países en vías de desarrollo.

En nuestro país actualmente se encuentra abierto el reclutamiento de pacientes para el “**AST 2018: ARGENTINA STOP TRIAL**: Estudio prospectivo de remisión libre de tratamiento en pacientes con **LMC EN FASE CRÓNICA** que han logrado remisión molecular profunda con inhibidores de tirosina kinasa en la vida real en Argentina”. Con los resultados del mismo podremos aportar nuestra experiencia local a los estudios globales. Por lo tanto, sólo se recomienda realizar la discontinuación de tratamiento en pacientes con LMC bajo el protocolo mencionado para asegurar no sólo la correcta selección del paciente sino asegurar un constante monitoreo molecular, con estricto seguimiento del paciente con el fin de controlar estrictamente su seguridad y evitar la progresión sin control.

Conflictos de interés:

Bibliografía

- Baccarani M, Cortes J, Pane F, Niederwieser D, Saglio G, Apperley J et al. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European Leukemia Net. *J Clin Oncol*. 2009; 27 (35):6041-51.
- Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, Hochhaus A, Soverini S, Apperley JF et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood*. 2013; 122 (6):872-84.
- Chomel JC, Bonnet ML, Sorel N y col. Leukemic stem cell persistence in chronic myeloid leukemia patients with sustained undetectable molecular residual disease. *Blood*. 2011; 118 (13):3657-60.
- Chomel JC, Sorel N, Guilhot J, Guilhot F, Turhan AG. BCR-ABL expression in leukemic progenitors and primitive stem cells of patients with chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2012; 119 (12):2964-5.
- Chomel JC, Bonnet ML, Sorel N y col. Leukemic stem cell persistence in chronic myeloid leukemia patients in deep molecular response induced by tyrosine kinase inhibitors and the impact of therapy discontinuation. *Oncotarget*. 2016; 7 (23):35293-301.
- Corbin AS, Agarwal A, Loriaux M, Cortes J, Deininger MW, Druker BJ. Human chronic myeloid leukemia stem cells are insensitive to imatinib despite inhibition of BCR-ABL activity. *J Clin Invest*. 2011; 121 (1):396-409.
- Christiansson L, Söderlund S, Svensson E y col. Increased level of myeloid-derived suppressor cells, programmed death receptor ligand 1/programmed death receptor 1, and soluble CD25 in Sokal high risk chronic myeloid leukemia. *PLoS One*. 2013; 8 (1):e55818.
- Cross NC, White HE, Colomer D, Ehrencrona H, Foroni L, Gottardi E y col. Laboratory recommendations for scoring deep molecular responses following treatment for chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2015; 29(5):999-1003.
- Cross NC, White HE, Ernst T y col. Development and evaluation of a secondary reference panel for BCR-ABL1 quantification on the International Scale. *Leukemia*. 2016 Jun 3. doi: 10.1038/leu.2016.90.
- Defina M, Ippoliti M, Gozzetti A y col. Evaluation of residual CD34 (+) Ph(+) progenitor cells in chronic myeloid leukemia patients who have complete cytogenetic response during first-line nilotinib therapy. *Cancer*. 2012; 118 (21):5265-9.
- Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, Gathmann I, Kantarjian H, Gattermann N et al. Five year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2006; 355(23):2408-17.
- Etienne G, Guilhot J, Rea D y col. Long-Term Follow-Up of the French Stop Imatinib (STIM1) Study in Patients With Chronic Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol*. 2017; 35 (3):298-305.
- Goldman JL, Gordon M. Why do chronic myelogenous leukemia stem cells survive allogeneic stem cell transplantation or imatinib: does it really matter? *Leuk Lymphoma*. 2006 Jan; 47 (1):1-7.
- Graham SM1, Jørgensen HG, Allan E y col. Primitive, quiescent, Philadelphia-positive stem cells from patients with chronic myeloid leukemia are insensitive to STI571 in vitro. *Blood*. 2002; 99(1):319-25.
- Hochhaus A, Larson RA, Guilhot F y col. Long-Term Outcomes of Imatinib Treatment for Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 2017; 376(10):917-927.
- Hochhaus A, Masszi T, Giles FJ y col. Treatment-free remission following frontline nilotinib in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase: results from the ENESTfreedom study. *Leukemia*. 2017 Jul;31(7):1525-1531.
- Hughes T, Deininger M, Hochhaus A y col. Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors: review and recommendations for harmonizing current methodology for detecting BCR-ABL transcripts and kinase domain mutations and for expressing results. *Blood*. 2006; 108(1):28-37.
- Hughes T, Boquimpani CM, Takahashi N y col. Treatment-Free Remission in Patients with Chronic Myeloid Leukemia in Chronic Phase According to Reasons for Switching from Imatinib to Nilotinib: Subgroup Analysis from ENESTop. *Blood*. 2016 128:792.
- Hughes A, Clarson J, Tang C y col. CML patients with deep molecular responses to TKI have restored immune effectors and decreased PD-1 and immune suppressors. *Blood*. 2017; 129(9):1166-1176.
- Imagawa J, Tanaka H, Okada M, DADI Trial Group y col. Discontinuation of dasatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained deep molecular response for longer than 1 year (DADI trial): a multicentre phase 2 trial. *Lancet Haematol*. 2015 Dec;2(12):e528-35.
- Kantarjian HM, Shah NP, Cortes JE, Baccarani M, Agarwal MB, Undurraga MS y col. Dasatinib or imatinib in

- newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: 2- year follow-up from a randomized phase 3 trial (DASISION). *Blood*. 2012; 119(5):1123-9.
22. Kumari A, Brendel C, Hochhaus A, Neubauer A, Burchert A. Low BCR-ABL expression levels in hematopoietic precursor cells enable persistence of chronic myeloid leukemia under imatinib. *Blood*. 2012; 119(2):530-9.
 23. Larripa I, Ruiz MS, Gutiérrez M, Bianchini M. Guidelines for molecular monitoring of BCR-ABL1 in chronic myeloid leukemia patients by RT-qPCR. *Medicina (B Aires)*. 2017; 77 (1):61-72.
 24. Larson RA, Hochhaus A, Hughes TP y col. Nilotinib vs imatinib in patients with newly diagnosed Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia in chronic phase: ENESTnd 3-year follow-up. *Leukemia*. 2012; 26(10):2197-203.
 25. Mahon FX, Réa D, Guilhot J y col. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial. *Lancet Oncol*. 2010; 11 (11):1029-35.
 26. Mahon FX, Boquimpani C, Kim DW y col. Treatment-Free Remission After Second-Line Nilotinib Treatment in Patients With Chronic Myeloid Leukemia in Chronic Phase: Results From a Single-Group, Phase 2, Open-Label Study. *Ann Intern Med*. 2018 Apr 3;168(7):461-470.
 27. O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, Gathmann I, Bacarani M, Cervantes F y col. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2003; 348(11):994-1004.
 28. O'Hare T1, Zabriskie MS, Eiring AM, Deininger MW. Pushing the limits of targeted therapy in chronic myeloid leukaemia. *Nat Rev Cancer*. 2012; 12 (8):513-26.
 29. Radich JP, Deininger M, Abboud CN, Altman JK, Berman E, Bhatia R et al. Chronic Myeloid Leukemia, Version 1.2019, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2018 Sep;16(9):1108-1135.
 30. Rea D, Henry G, Khaznadar Z y col. Natural killer-cell counts are associated with molecular relapse-free survival after imatinib discontinuation in chronic myeloid leukemia: the IMMUNOSTIM study. *Haematologica*. 2017; 102(8): 1368-1377.
 31. Rowley JD. Letter: A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature*. 1973; 243(5405):290-3.
 32. Ross DM, Masszi T, Gómez Casares MT y col. Durable treatment-free remission in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase following frontline nilotinib: 96-week update of the ENESTfreedom study. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2018 May;144(5):945-954.
 33. Ruiz MS, Medina M, Tapia I y col. Standardization of molecular monitoring for chronic myeloid leukemia in Latin America using locally produced secondary cellular calibrators. *Leukemia*. 2016; 30 (11):2258- 2260.
 34. Ruiz MS, Baffa Trasci S, Moiraghi B, Pérez M, Burgos R, Foncuberta C, Vitriu A, Pavlovsky C, Mordoh J, Larripa I, Sánchez Ávalos JC, Bianchini M. BCR-ABL1 expression is reduced in the primitive precursor fraction from cml tki-treated patients. *European Hematology Association*. (Viena, Austria 2015).
 35. Ruiz MS, Sanchez MB, Gutiérrez L y col. Evaluation of the primitive fraction by functional in vitro assays at the RNA and DNA level represents a novel tool for complementing molecular monitoring in chronic myeloid leukemia. *Oncotarget*. 2018 Apr 17;9(29):20255-20264.
 36. Saussele S, Richter J, Guilhot J y col. Discontinuation of tyrosine kinase inhibitor therapy in chronic myeloid leukaemia (EURO-SKI): a prespecified interim analysis of a prospective, multicentre, non-randomised trial. *Lancet Oncol*. 2018 Jun;19(6):747-757.
 37. Shah NP. NCCN Guidelines Updates: Discontinuing TKI Therapy in the Treatment of Chronic Myeloid Leukemia. *J Natl Compr Canc Netw*. 2019 May 1;17(5.5):611-613.
 38. Shah NP, Paquette R, Müller MC y col. Treatment-Free Remission (TFR) in Patients with Chronic Phase Chronic Myeloid Leukemia (CML-CP) and in Stable Deep Molecular Response (DMR) to Dasatinib - the Dasfree Study. *Blood*. 2016 128:1895.
 39. Stein AM, Bottino D, Modur V y col. BCR-ABL transcript dynamics support the hypothesis that leukemic stem cells are reduced during imatinib treatment. *Clin Cancer Res*. 2011;17 (21):6812-21.
 40. White HE, Matejtschuk P, Rigsby P et al. Establishment of the first World Health Organization International Genetic Reference Panel for quantitation of BCR-ABL mRNA. *Blood*. 2010 Nov 25;116(22):e111-7.



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.

Valoración del PET interino en el linfoma difuso de células grandes B

Assessment of interim PET in diffuse large B cell lymphoma

Márquez M.

Hospital de Oncología María Curie
Jefe Servicio de Hematología

marisammarquez@hotmail.com



CONTROVERSIAS
EN LINFOMAS
AGRESIVOS

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 131-138
Octubre 2019

Palabras claves: PET interino,
linfoma difuso de células grandes B,
 Δ SUVmax.

Keywords: intrim PET,
diffuse large B cell lymphoma,
 Δ SUVmax.

Resumen

La tomografía por emisión de positrones PET/TC con 18F fluorodeoxiglucosa (FDG) se convirtió en el método estándar de valoración de respuesta de los linfomas en 2007, tras la revisión de los criterios de respuesta en los linfomas no Hodgkin (LNH), realizada por el *International Working Group* (IWG), válida también para los linfomas de Hodgkin (LH). Desde entonces se han producido avances notables en este campo. Para el linfoma difuso de células grandes B (LDCGB), ha demostrado utilidad en la estadificación inicial como en el pronóstico de fin de tratamiento. Sin embargo, su rol durante el tratamiento, definido por PET interino (PETi), continúa siendo motivo de debate. El objetivo de obtener un resultado confiable durante el tratamiento se orienta a poder dirigir terapias sin aumentar toxicidad o tratar en forma insuficiente. El momento de realizar PETi podría ser después de 2 o 4 ciclos de inmunoterapia. Para la valoración, los especialistas en Medicina Nuclear cuentan con métodos visuales, como el índice de Deauville (DS), o semicuantitativos, como el delta SUV máximo (Δ SUV max).

Al PETi se le reconocería un buen valor predictivo negativo. Pero la interpretación también estaría sujeta a la extensión de enfermedad, ya que el método visual sería más preciso para los estadios localizados. Así es que se evalúan métodos semicuantitativos para los estadios avanzados en un intento de mejorar su valor predictivo. En este sentido, se han estudiado cambios en el valor del SUV max entre PET basal y PETi, lo que se llama delta SUV máximo (Δ SUV max), como medida de respuesta. Un valor bajo de Δ SUV max se asocia con aumento del riesgo de recaída, y orientaría a evaluar la terapia, sin que se haya demostrado que cambios de estrategia redunden en beneficios clínicos. Cuando resulta negativo, tiene un valor predictivo negativo muy bueno. Pero no hay trabajos que demuestren superioridad en la estrategia de tratamiento guiada por PET en el LDCGB. La alta probabilidad de procesos inflamatorios en pacientes que reciben inmunoterapia contribuye a resultados falsos positivos. Están en investigación métodos más sofisticados para la interpretación cuantitativa del PETi, con el objetivo de poder discriminar grupos de riesgo

en los LDCGB. Hasta el momento ningún estudio prospectivo ha demostrado resultados que puedan orientar a definir con certeza grupos pronósticos o cambios en la indicación de tratamiento basados en resultados de PETi.

Introducción

Los linfomas comprenden un grupo heterogéneo de procesos linfoproliferativos malignos que difieren en el curso clínico y en la respuesta a los tratamientos. Dentro de ellos, los LDCGB representan el subtipo más frecuente. No obstante, se trata de un grupo heterogéneo en cuanto a su anatomía patológica y su perfil de expresión génica. Los conocimientos en la heterogeneidad y complejidad de los procesos biológicos del LDCGB están en constante crecimiento, lo que podría orientar a adaptar las modalidades terapéuticas. Pero, a pesar de los avances en la inmunoterapia, entre en 30 a 40% de los pacientes con LDCGB mueren por esta enfermedad. En este grupo de pacientes la predicción temprana podría permitir adaptar las terapias para mejorar los resultados en la curación y disminuir la toxicidad⁽¹⁾. En los últimos años, PET/TC se erige como la forma más sólida para realizar tratamientos ajustados al paciente, intentando lograr un equilibrio entre el éxito de los tratamientos, con su capacidad de curar, la toxicidad que ellos provocan y los costos que generan a la salud pública.

El PET/TC representa una herramienta fundamental en la estadificación y en el pronóstico al evaluarlo en el inicio y al final del tratamiento. De acuerdo con las recomendaciones y consenso del ICMLIG (*International Conference Malignant Lymphoma Imaging Group*) de 2014, la contribución de PET durante el tratamiento en el LDCGB permanece en el campo exploratorio⁽²⁾. Los expertos reconocen que PET/TC es superior a la tomografía para evaluar respuesta temprana, ya que la respuesta metabólica se produce más precozmente que la anatómica, pero hay dudas en cuanto a los resultados positivos en los tratamientos con inmunoterapia. Dados los avances de la tecnología en la realización y en la interpretación de PET/TC, los expertos buscan optimizar los criterios de calidad y estandarización de los estudios interinos. Esto permitiría mejorar su valor y su rol durante el tratamiento, y utilizar los resultados en los ajustes de la estrategia terapéutica, o en lo que sería la “terapia dirigida por PET”^(3,4).

Concepto de PET interino

El PET interino es el que se obtiene durante el tratamiento planeado y antes de completarlo. Su objetivo principal es predecir la respuesta al tratamiento para identificar en forma precoz a los pacientes que responden pobremente. Además, permitiría reconocer a los buenos respondedores, ajustando la terapéutica y evitando toxicidad innecesaria⁽⁵⁾.

Su intento de incorporarlo a la valoración de la respuesta precoz al tratamiento en los LDCGB se relaciona con la experiencia excelente que existe para el linfoma de Hodgkin.

En el LDCGB la mayoría de las recaídas ocurren en los primeros 2 años después del diagnóstico. La evaluación de la respuesta temprana con PET podría facilitar el ajuste precoz del tratamiento, evitando efectos secundarios innecesarios y optimizando los resultados a la sensibilidad tumoral de cada paciente. En la mayoría de los trabajos se realiza luego de 2 o de 4 ciclos. Existen publicaciones que lo realizan luego de 1 ciclo, pero la experiencia es muy limitada. Sin embargo, el PETi negativo luego de 1 o 2 ciclos reconoce pacientes con alta sensibilidad a la quimioterapia y buen pronóstico⁽⁶⁾.

El más utilizado es el PETi4, que reemplazaría la tomografía de mitad de tratamiento, pero los grupos que utilizan el PETi1 o PETi2 consideran que el PETi 4 es muy tardío para modificar conductas.

La comparación del PETi con el PET de principio de la estadificación (PET0) se basa en el cambio de la afinidad por la glucosa de las células tumorales. La reducción del metabolismo de la glucosa no es un proceso lineal. Depende del tipo de quimioterapia, el intervalo entre los ciclos y del número de ciclos recibidos. Hasta ahora, no hay registros de una racionalidad biológica para definir cuándo hacer el PETi⁽⁷⁾.

Evaluación de respuesta mediante 18F-FDG PET/TC en pacientes tratados con inmunoterapia

Los estudios PET/TC diagnósticos en linfomas con afección por la 18F-FDG generalmente se interpretan mediante valoración visual⁽⁸⁾, especificando las localizaciones con aumento de captación de 18F-FDG nodales y extranodales que son diferenciables de captaciones fisiológicas o de otros patrones de aumento de captación de FDG, incluyendo procesos inflamatorios y/o infecciosos⁽⁹⁾.

Se debe utilizar un valor de visualización y una escala de color fijos ajustados al valor de captación estandarizado (SUV)⁽¹⁰⁾ para ayudar a la estandarización en las exploraciones seriadas y para reducir el efecto del tamaño del paciente. El SUV es un parámetro de actividad metabólica corregido por el peso del paciente y la actividad administrada. La normalización de los focos hipermetabólicos en las localizaciones iniciales de la enfermedad indica respuesta metabólica. La reducción de captación de FDG también indica respuesta; pero el grado de captación que indica respuesta depende del momento en que se haga PET en el transcurso del tratamiento, del contexto clínico, incluyendo tipo de linfoma y pronóstico, y del tratamiento empleado⁽¹¹⁾. La disponibilidad de un estudio inicial basal es lo ideal para las valoraciones de respuesta subsecuentes. La recomendación actual es usar la escala de 5 puntos o escala de Deauville (Tabla 1) y los criterios de respuesta metabólica de Lugano (Tabla 2), tanto para ensayos clínicos que incluyan la valoración de respuesta precoz como para la valoración al final del tratamiento^(12,13).

Los criterios de Lugano están basados en el uso de tratamientos tradicionales de quimioterapia o inmuoquimioterapia, principalmente con CHOP o R-CHOP. Actualmente se dispone de un número creciente de agentes biológicos con mecanismos inmunes que han mostrado buenos resultados en una amplia variedad de linfomas. Sin embargo, estas terapias pueden asociarse a hallazgos clínicos y en las técnicas de imagen sugerentes de progresión de la enfermedad durante el tratamiento, a pesar de haber evidencias de beneficio clínico; es lo que se denomina pseudoprogresión o tumor *flare*. Este hecho ha requerido flexibilizar, e incluso modificar, los criterios recomendados cuando se usen agentes biológicos o agentes con propiedades inmunomoduladoras. Cheson et al. propusieron modificar los cri-

terios de Lugano para adaptarlos al uso de agentes biológicos o inmunomoduladores, en especial en lo que se refiere a la definición de progresión de la enfermedad. Surgieron así los denominados criterios LYRIC: *LYmphoma Response to Immunomodulatory therapy Criteria* (Tabla 3). Los criterios LYRIC introducen el criterio de «respuesta indeterminada» para identificar los casos dudosos entre progresión o pseudoprogresión de la enfermedad, hasta que tales lesiones sean confirmadas por biopsia, o mediante estudios de imagen subsecuentes⁽¹⁴⁾. Es frecuente en la práctica clínica y en los ensayos clínicos realizar PET/TC en el curso del tratamiento (PETi). Se han propuesto métodos cuantitativos para interpretar PETi en un intento de mejorar su valor predictivo. En este sentido, se han estudiado cambios en el valor del SUV max entre PET basal y PETi, lo que se llama delta SUV máximo (Δ SUVmax), como medida de respuesta. Así, varios estudios han mostrado que un valor de Δ SUVmax mayor del 66-70% sí podía predecir la respuesta favorable al tratamiento⁽¹⁵⁾. Sin embargo, los resultados de otros estudios han sido contradictorios⁽¹⁶⁾. Para el caso de PETi en LDCGB, la ausencia de estandarización hace que resulte difícil comparar los resultados de los diferentes estudios, ya que unos comparan la captación con la masa residual circundante y otros con el mediastino⁽¹⁷⁾. Juweid et al. demostraron que al realizar biopsias en pacientes con PETi4 positivo, luego de 4 ciclos de R-CHOP14, sólo encontraron linfoma en el 23% de los casos⁽¹⁸⁾. La discrepancia también se asocia a los fenómenos inflamatorios determinados por la inmuoquimioterapia, que en los primeros estudios fueron desestimados porque no todos los pacientes habían recibido rituximab. El valor predictivo de PETi también difiere por el perfil molecular del linfoma. Para el LDCGB centrogerminal existió diferencia significativa en la sobrevida libre de progresión por PETi2 (100% para los nega-

Tabla 1. Clasificación de la respuesta según la escala de 5 puntos de Deauville (2009)

Clasificación	Criterio
1	No captación > actividad de fondo
2	Captación $\leq$ actividad de mediastino
3	Captación > que mediastino pero $\leq$ actividad hepática
4	Captación > actividad hepática
5	Captación marcadamente > actividad hepática

Tabla 2. Clasificación de respuesta según los criterios de Lugano (2014)

Clasificación	Criterios PET/TC	Criterios TC
Respuesta completa	- Puntuación 1, 2 o 3 - Sin lesiones de nueva aparición - Sin afectación de médula ósea	En lesiones de diámetro mayor > 1,5 cm: - Regresión de adenopatías u organomegalias a tamaño normal - Sin afectación de médula ósea
Respuesta parcial	- Puntuación 4 o 5 - Actividad reducida respecto a PET inicial - Sin lesiones de nueva aparición - Actividad reducida en lesiones de médula ósea en comparación con PET inicial	- Reducción > 50% de la suma del producto de diámetros perpendiculares de hasta 6 lesiones - Reducción > 50% en el tamaño del bazo respecto al estudio inicial - Sin lesiones de nueva aparición
Enfermedad estable	- Actividad estable respecto a PET inicial - Sin lesiones de nueva aparición - Sin cambios en lesiones de médula ósea	- Sin lesiones de nueva aparición - Reducción < 50% de la suma del producto de diámetros perpendiculares de hasta 6 lesiones. - Sin lesiones de nueva aparición ni criterios de progresión
Progresión	- Puntuación 4 o 5 - Aumento de actividad en comparación con lesiones previas - Lesiones de nueva aparición o recurrentes en médula ósea	- Aumento > 50% del producto de los diámetros perpendiculares de las lesiones - Aumento del diámetro de las lesiones (> 0,5 cm si la lesión es < 1 cm y < 1 cm en lesiones > 1 cm) - Esplenomegalia recurrente o de nueva aparición - Lesiones de nueva aparición (nodales o en médula ósea)

Tabla 3. Valoración de respuesta según los criterios LYRIC

RC	RP	Progresión
Igual que Lugano	Igual que Lugano	Igual que Lugano con la excepción: respuesta indeterminada RI1: aumento $\geq$ 50% de la SPD en las primeras 12 semanas RI2: aumento < 50% en la SPD con: a. nuevas lesiones o b. aumento > 50% del PDP de una o varias lesiones en el transcurso del tratamiento RI3: aumento de captación de FDG sin incremento concomitante en el tamaño de las lesiones
LYRIC: Lymphoma Response to Immunomodulatory Therapy Criteria		PDP: producto de los diámetros perpendiculares; RC: respuesta completa; RI: respuesta indeterminada; RP: respuesta parcial; SPD: suma del producto de los diámetros

tivos vs 60% para los positivos), no existiendo diferencias en los de origen no centrogerminal. Tampoco resultan absolutos los resultados de PET de fin de tratamiento, ya que aún con PET negativo de fin de tratamiento, recae un 14%⁽¹⁹⁾.

Estrategias de tratamiento dirigidas por PETi

Es frecuente en la práctica clínica y en los ensayos clínicos realizar PETi para valorar la efectividad de la terapia y excluir la posibilidad de progresión de la enfermedad. La respuesta metabólica se produce más precozmente que la respuesta anatómica, por lo que PET/TC ha remplazado a la TC en la valoración precoz de respuesta al tratamiento.

En el caso de los LDCBG, PETi ha mostrado resultados controvertidos. Algunos estudios indican que, durante el tratamiento con R-CHOP, el PETi tiene menor valor predictivo que el PET al final del tratamiento⁽²⁰⁾ e incluso algunos autores sostienen que no tiene ningún valor⁽²¹⁾. Por lo tanto, la recomendación de las guías actuales es que, fuera de ensayos o protocolos clínicos, el tratamiento no debe alterarse en función de PETi, a no ser que haya evidencias claras de progresión de la enfermedad. En pacientes con LH, la valoración visual de PETi de acuerdo con la escala de 5 puntos tiene un alto valor predictivo negativo (VPN), de aproximadamente un 95% y aceptable valor predictivo positivo (VPP), alrededor del 73%. En pacientes con LDCBG, PETi tiene un alto VPN, entre el 73 y el 86%, pero un VPP más variable, entre el 18 y el 74%⁽²²⁾. Este VPP relativamente bajo puede estar en relación con la inmunoterapia, donde es más frecuente encontrar falsos positivos⁽²¹⁾. Podría ser necesario un valor de corte diferente o una combinación de factores para el manejo actual de los pacientes con LDCBG. El grupo LYSA comparó la utilización de los criterios de Deauville (DS), que es un método visual, y los de Δ SUV max, método semicuantitativo, y el riesgo de falsos positivos se reducía de 80% a 30%⁽²³⁾. Sin embargo, Mamot, del grupo SAKK, no observó dicha ventaja. Valorando los dos trabajos, se observa que hay diferencias en las poblaciones de pacientes, ya que el grupo LYSA solo incluyó pacientes con IPI de alto riesgo, en cambio el grupo SAKK presentó resultados con pacientes de estadios localizados con IPI de bajo riesgo⁽²⁴⁾. De esto se interpreta que Δ SUVmax es menos predictivo para estadios localizados y porque tendrían un menor SUV basal que limitaría la ca-

pacidad para definir reducciones posteriores por el tratamiento. En los pacientes con estadios localizados serían más útiles las evaluaciones con métodos visuales (DS).

Al valorar PETi, se plantean 2 escenarios: reducir la intensidad del tratamiento en los negativos o intensificarlo en los positivos. Si el valor predictivo es negativo, podrían plantearse reducciones en el tratamiento en los pacientes PETi negativos. El estudio LYSA/GELA LNH2007, observó que pacientes con reducciones de 66% de Δ SUVmax luego de PETi2 y de 70% luego de PETi4 tuvieron una evolución similar a los que consolidaron con autotrasplante⁽²³⁾. Por otro lado, Kasamon et al. demostraron que en los pacientes con PETi4 positivo, la consolidación con trasplante de médula ósea no previno el riesgo de recaídas. Por lo tanto, la intensificación del tratamiento no superaría el mal pronóstico de PETi4 positivo⁽²⁶⁾. Otro escenario donde cobra importancia la posibilidad de reducir el tratamiento es en los pacientes mayores de 70 años. Sin embargo, todos los datos obtenidos hasta la fecha corresponden a pacientes jóvenes, por lo que la interpretación en este grupo aún no está definida⁽⁵⁾. La valoración por Δ SUV max fue utilizado por 2 estudios prospectivos: PETAL y GAINED. El estudio PETAL incluyó 600 pacientes con LDCBG, tratados con R-CHOP 14. En los pacientes con PETi positivo por una reducción menor de 66% del Δ SUV max se escalaba a un esquema para linfoma Burkitt. A pesar del cambio de quimioterapia no existieron diferencias significativas en el tiempo de falla al tratamiento entre los que cambiaron y los que continuaron el mismo tratamiento. En los pacientes con estadios localizados, si PETi2 y PETi4 eran negativos, podría plantearse omitir la radioterapia⁽²⁶⁾. Sin embargo, en la práctica se observa que hay predilección por evaluar a los pacientes en mitad de tratamiento con PETi, más que con TC. En el caso de los paciente menores de 65 años *de novo*, se está evaluando realizar PETi luego de 2 y de 4 ciclos. Esto permite reconocer los respondedores rápidos, con ambos PETi negativos, de los respondedores lentos, con PETi2 positivo y PETi4 negativo. En el estudio GAINED, se propone cambiar terapia y consolidar con autotrasplante, incluyendo pacientes con tratamiento con obinutuzumab vs rituximab, según los datos de PETi. Los resultados de estas estrategias no permitieron demostrar ventajas en cambiar de tratamiento con

presencia de mayor toxicidad⁽⁵⁾.

Por lo tanto, no existe evidencia firme del valor predictivo de PETi usando el análisis visual o el SUVmax en los LDCBG, por lo que, fuera de estudios clínicos, no debe recomendarse cambios en la actitud terapéutica en función de PETi. Se están investigando métodos más sofisticados de cuantificación de PETi en pacientes con LH y LNH, como el volumen metabólico total (MTV) y la carga glucídica total (TLG)⁽²⁷⁾. Estas determinaciones se realizan a través de un programa automatizado, mejorando la estandarización de los resultados. Actualmente los estudios son escasos y heterogéneos, pero estos parámetros podrían contribuir a que PET discrimine entre grupos de riesgo mejor que el SUVmax, si bien esto tiene que confirmarse en estudios amplios bien diseñados. Para el uso de técnicas cuantitativas, es obligatorio la estandarización de los estudios PET⁽²⁸⁾. También están considerándose la incorporación de nuevas moléculas como la 18 fluorotimidina (FLT), que sería mejor para valorar la proliferación luego de 2 ciclos de tratamiento, con mejor valor predictivo positivo en masas residuales (91% con FLT y 46% con FDG). Otros estudios que están siendo considerados para definir respuestas son las determinaciones de ctDNA (*Circulating tumor DNA*), que podrían también complementar los estudios de imágenes para reconocer aquellos pacientes que requieran ajustes en sus tratamientos.

Se están desarrollando evaluaciones avanzadas de las imágenes utilizando algoritmos radiómicos⁽²⁰⁾. La radiómica es una tecnología que convierte imágenes médicas en datos cuantificables. Extrae y analiza grandes cantidades de información cuantitativa de imágenes médicas a partir de tomografías, resonancias y estudios PET/TC. De esta forma logran constituir modelos predictivos y descriptivos que relacionan las características de las imágenes con fenotipos o firmas de genes y proteínas. La nueva técnica radiómica permitiría predecir la evolución del tumor. Hay múltiples estudios en evaluación, estas imágenes representarían la huella digital de la patología. Se describen numerosos avances el cáncer de pulmón, linfoma Hodgkin, linfoma de SNC y mieloma⁽²⁹⁻³¹⁾. Sin embargo, en aquellos pacientes que luego de PETi4 no alcanzan respuesta metabólica, algunos autores consideran evaluar cambio de quimioterapia o intensificar el tratamiento^(5, 17).

Conclusiones

En aquellos pacientes en los que se diagnostica un LDCBG es fundamental realizar una correcta estadificación inicial y valorar en forma precisa la respuesta al tratamiento. Además de la valoración clínica y de laboratorio, son necesarias las técnicas de imágenes para la estadificación. En este contexto, PET/TC es la técnica de imágenes estándar porque es más sensible que TC y brinda un estudio basal de referencia con qué comparar la respuesta al tratamiento. La utilización de la escala de Deauville (visual) ha mejorado la estandarización para evaluar respuesta comparando estudios.

Con respecto al PETi, se están investigando métodos más sofisticados de cuantificación como Δ SUVmax, el MTV y la TLG. Aunque actualmente los resultados son escasos y heterogéneos, estos parámetros podrían contribuir a que PET discrimine entre grupos de riesgo, si bien esto debe confirmarse con estudios amplios donde se contemplen la histología, el perfil génico y los factores pronósticos de cada paciente. Al PETi se le reconocería un buen valor predictivo negativo. Pero la interpretación también estaría sujeta a la extensión de enfermedad, ya que el método visual, que es el utilizado actualmente fuera de ensayos clínicos, sería más preciso para los estadios localizados. También debemos considerar el perfil molecular del linfoma, ya que para los de origen centrogeminal, existió diferencia significativa en la sobrevida libre de progresión por PETi2 negativo. La valoración de respuesta con PETi aumenta si se realizan estudios sucesivos, PETi2 y PETi4, permitiendo reconocer pacientes respondedores rápidos y lentos en los que se podrían adaptar las terapias. No obstante, estas conductas deben ser validadas. No existe evidencia firme del valor predictivo de PETi en LDCBG, tanto por el método visual (DS) como por el semicuantitativo (Δ SUVmax), por lo que no deben recomendarse cambios en la actitud terapéutica en función de PETi, salvo en aquellos casos donde se observe progresión franca de la enfermedad. Sin duda la complementación de las técnicas de imágenes con los parámetros biológicos, como la determinación de ctDNA o las valoraciones radiómicas, permitirán en el futuro realizar tratamientos adaptados a las características del paciente y a la biología de la enfermedad.

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

Bibliografía

1. Coiffier B, Thieblemont C, Van Den Neste E et al. Long-term outcome of patients in the LNH-98.5 trial, the first randomized study comparing rituximab-CHOP to standard CHOP chemotherapy in DLB-CL patients: a study by the Groupe d'Études des Lymphomes de l'Adulte. *Blood*. 2010;116:2040-5.
2. Barrington SF, Mikhaeel NG, Kostakoglu L et al. Role of imaging in the staging and response assessment of lymphoma: consensus of the International Conference on Malignant Lymphomas Imaging Working Group. *J Clin Oncol*. 2014;32(27):3048-3058.
3. Safar V, Dupuis J, Itti E, Jardin F, Fruchart C, Bardet S et al. Interim [18F]fluorodeoxyglucose positron emission tomography scan in diffuse large B-cell lymphoma treated with anthracycline-based chemotherapy plus rituximab. *J Clin Oncol*. 2012;30:184-90.
4. Zinzani PL, Gandolfi L, Broccoli A, Argnani L, Fanti S, Pellegrini C et al. Midtreatment 18F-fluorodeoxyglucose positron-emission tomography in aggressive non-Hodgkin lymphoma. *Cancer*. 2011;117:1010.
5. Le Gouill S, Casasnovas RO. Interim PET-driven strategy in de novo diffuse large B-cell lymphoma: do we trust the driver? *Blood*. 2017 Jun 8;129(23):3059-3070.
6. Kostakoglu L, Goldsmith SJ, Leonard JP et al. FDG-PET after 1 cycle of therapy predicts outcome in diffuse large cell lymphoma and classic Hodgkin disease. *Cancer*. 2006;107(11): 2678-2687.
7. Kasamon YL, Wahl RL. FDG PET and risk adapted therapy in Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma. *Curr Opin Oncol*. 2008;20(2):206-219 4.
8. Meignan M, Gallamini A, Meignan M et al Report on the First International Workshop on Interim-PET-Scan in Lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2009;50:1257-60.
9. Barrington SF, O'Doherty MJ. Limitations of PET for imaging lymphoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2003;30 Suppl. 1:S117-27.
10. Barrington SF, Mikhaeel NG. When should FDG-PET be used in the modern management of lymphoma? *Br J Haematol*. 2014;164:315-28.
11. Pregno P, Chiappella A, Bello M et al. Interim 18-FDG-PET/CT failed to predict the outcome in diffuse large B-cell lymphoma patients treated at the diagnosis with rituximab-CHOP. *Blood*. 2012;119:2066-73.
12. Barrington SF, Mikhaeel NG, Kostakoglu L, Meignan M, Hutchings M, Mueller SP et al. Role of imaging in the staging and response assessment of lymphoma: consensus of the International Conference on Malignant Lymphomas Imaging Working Group. *J Clin Oncol*. 2014;32:3048-58. 23.
13. Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, Cavalli F, Schwartz LH, Zucca E et al. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J Clin Oncol*. 2014;32:3059-68.
14. Cheson BD, Ansell S, Schwartz L et al. Refinement of the Lugano classification response criteria for lymphoma in the era of immunomodulatory therapy. *Blood*. 2016;128:2489-96.
15. Yang DH, Ahn JS, Byun BH, Min JJ, Kweon SS, Chae YS et al. Interim PET/CTbased prognostic model for the treatment of diffuse large B cell lymphoma in the post-rituximab era. *Ann Hematol*. 2013;92:471-9.
16. Itti E, Meignan M, Berriolo-Riedinger A, Biggi A, Cashen AF, Vera P et al. An international confirmatory study of the prognostic value of early PET/CT in diffuse large B-cell lymphoma: Comparison between Deauville criteria and DeltaSUVmax. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2013;40:1312-20.
17. Nols N, Mounier N, Bouazza S, Lhommel R, Costantini S, Vander Borgh T et al. Quantitative and qualitative analysis of metabolic response at interim positron emission tomography scan combined with International Prognostic Index is highly predictive of outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2014;55:773-80.
18. Juweid ME, Smith B, Itti E, Meignan M. Can the interim fluorodeoxyglucose-positron emission tomography standardized uptake value be used to determine the need for residual mass biopsy after dose-dense immunochemotherapy for advanced diffuse large B-cell lymphoma? *J Clin Oncol*. 2010;28(34):e719-e720, author reply e721-e722.
19. Cheson BD, Kostakoglu L. FDG-PET for early response assessment in lymphomas: Part 2-Diffuse large B-cell lymphoma use of quantitative PET evaluation. *Oncology (Williston Park)*. 2017:31.
20. Sehn LH, Hardy ELG, Gill KK et al Phase 2 trial of interimPET scan-tailored therapy in patients with advanced stagediffuse large B-cell lymphoma (DLB-

- CL) in British Columbia (BC) [abstract]. *Blood*. 2014;124:392. Abstract 392
21. Chaganti S, Illidge T, Barrington S, McKay P, Linton K, Cwynarski K et al. Guidelines for the management of diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol*. 2016;174:43-56.
 22. Zhang Y, Fan Y, Ying Z, et al. Can the SUVmax-liver based interpretation improve prognostic accuracy of interim and posttreatment 18F-FDG PET/CT in patients with diffuse large B-cell lymphoma? *Leuk Lymphoma*. 2018. March;59(3):660-669. 10.1080/10428194.2017.1357171
 23. Casasnovas RO, Meignan M, Berriolo-Riedinger A et al; Groupe d'étude des lymphomes de l'adulte (GELA). SUVmax reduction improves early prognosis value of interim positron emission tomography scans in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2011;118(1):37-43.
 24. Mamot C, Klingbiel D, Hitz F et al. Final results of a prospective evaluation of the predictive value of interim positron emission tomography in patients with diffuse B-cell lymphoma treated with R-CHOP-14. (SAKK 38/07). *J Clin Oncol*. 2015;33(23):2523-2529.
 25. Kasamon YL, Wahl RL, Ziessman HA et al. Phase II study of risk-adapted therapy of newly diagnosed, aggressive non-Hodgkin lymphoma based on midtreatment FDG-PET scanning. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009;15(2):242-248.
 26. Huttman A, Rekowski J, Muller SP et al. Six versus eight doses of rituximab in patients with aggressive B cell lymphoma receiving six cycles of CHOP: results from the "Positron Emission Tomography-Guided Therapy of Aggressive Non-Hodgkin Lymphomas" (PETAL) trial. *Ann Hematol*. 2019 Jan 4.
 27. Kim TM, Paeng JC, Chun IK et al. Total lesion glycolysis in positron emission tomography is a better predictor of outcome than the international prognostic index for patients with diffuse large B cell lymphoma. *Cancer*. 2013;119:1195-202.
 28. Tamayo P, Martín A, Díaz L, Cabrero M, et al. 18F-FDG PET/TC en el manejo clínico de los linfomas. *Rev Esp Med Nucl Imagen Mol*. 2017;36:312-321.
 29. Gillies RJ, Kinahan PE, Hricak H. Radiomics: Images are more than pictures, they are data. *Radiology*. 2016;278:563-57.
 30. Lu L, Ehmke RC, Schwartz LH, Zhao B. Assessing agreement between radiomic features computed for multiple CT imaging settings. *PLoS One*. 2016;11:e0166550.
 31. Milgrom SA, Elhalawani H, Lee J et al. A PET radiomics model to predict refractory mediastinal Hodgkin. *Sci Rep*. 2019;9(1):1322.

Agradecimiento: Dra Magalí Hovsepian por su asesoramiento.



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.

Prevención cuaternaria en linfomas ("O todos los estudios que alguna vez hemos pedido de más!")

Quaternary prevention in lymphomas

Zerga M.

*Directora del Área Médica Instituto de Oncología "Angel H Roffo". UBA.
Médica de Planta de Servicio de Hematología. Hospital Alemán.*

melizerga@hotmail.com



**CONTROVERSIAS
EN LINFOMAS
AGRESIVOS**

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 139-145
Octubre 2019

Palabras claves: prevención cuaternaria,
radiación en estudios diagnósticos.

Keywords: quaternary prevention,
radiation in diagnostic studies.

¿Qué es la prevención cuaternaria?

La Organización Mundial de la Salud define como **prevención** a todas aquellas medidas destinadas no solamente a prevenir la aparición de la enfermedad, tales como la educación sobre factores de riesgo, sino también a detener su avance y atenuar sus consecuencias una vez establecida la misma⁽¹⁾. Clásicamente se reconocen tres niveles de prevención. Un nivel **primario**, constituido por toda aquella intervención que evita la enfermedad (prevención propiamente dicha), un nivel **secundario**, que corresponde a aquellas intervenciones que logran el diagnóstico y tratamiento precoz de la enfermedad en su fase asintomática (diagnóstico precoz o "tamizaje"), y un nivel **terciario**, que corresponde a las intervenciones que logran la reinserción social del paciente (rehabilitación). **Tabla I.**

Sin embargo, en los últimos tiempos, dominados por la medicina defensiva, se ha acuñado el término "**prevención cuaternaria**", que fuera definida en el

año 2003 por Bentzer⁽²⁾, como **todas aquellas medidas adoptadas para identificar a un paciente en riesgo de medicalización excesiva, para protegerlo de intrusiones médicas adicionales y sugerir intervenciones éticamente aceptables**". En otras palabras, se considera **prevención cuaternaria a todas aquellas actividades que intentan evitar, reducir y/o paliar el daño provocado en los pacientes por la intervención médica**⁽³⁻⁵⁾.

En cada acto médico debe estar presente el principio ético de primero no dañar ("*primum non nocere*"). A ello se refiere la prevención cuaternaria. De este modo podemos encontrar intervenciones excesivas en pruebas de tamizaje, sobre-diagnósticos y tratamientos desmedidos o sin la debida evidencia científica. El objetivo de la prevención cuaternaria es limitar el daño iatrogénico aceptando un cierto grado de escepticismo saludable que acepte algún nivel de incertidumbre en el ejercicio del arte de curar.

Tabla I. Niveles de prevención de la OMS ⁽¹⁾

Niveles de prevención	Definición	
Primaria	Toda aquella intervención que evita la enfermedad.	<i>Prevención propiamente dicha</i>
Secundaria	Intervención que logra el diagnóstico y tratamiento precoz de la enfermedad en su fase asintomática.	<i>Tamizaje</i>
Terciaria	Intervención que logra la reinserción social del paciente.	<i>Rehabilitación</i>
Cuaternaria	Todas aquellas actividades que intentan evitar, reducir y/o paliar el daño provocado en los pacientes por la intervención médica.	

La prevención cuaternaria deberá considerar dos aspectos del ejercicio profesional actual: **la medicalización de la vida** y **la medicina preventiva**.

La **medicalización de la vida** se refiere a la transformación de situaciones normales en procesos patológicos (embarazo, puerperio, menopausia, envejecimiento), ya sea mediante la restricción de los límites de la normalidad, corriendo los puntos de corte para el diagnóstico, o la transformación de factores de riesgo en enfermedades, lo cual hace que pacientes sanos sean considerados como enfermos. En cuanto a la **medicina preventiva**, ciertas intervenciones como los estudios de tamizaje, los tratamientos de etapas muy precoces de las enfermedades sin un beneficio terapéutico claro y la consideración de los factores de riesgo como si fueran enfermedades en sí mismas, constituyen ejemplos de excesos de la medicina preventiva.

¿Es aplicable la prevención cuaternaria en los procesos linfoproliferativos?

En ciertas especialidades médicas el tema adopta dimensiones exageradas. Muchas especialidades clínicas (geriátrica, cardiología, medicina interna, etc.) contienen numerosos ejemplos. Diversas iniciativas en el mundo como “*Choosing Wisely*” y “*Less in More*”, y en Argentina (“Iniciativa Inter Especialidades”), reúnen la opinión de las sociedades científicas a fin de definir prácticas diagnósticas o terapéuticas innecesarias.

Si bien la prevención cuaternaria no constituye una preocupación en la oncohematología en general y en los procesos linfoproliferativos en particular, se pueden mencionar ciertos ejemplos de prácticas innecesarias en el diagnóstico y seguimiento a largo

plazo de los pacientes con linfomas, así como algunas estrategias terapéuticas controversiales.

1. ¿Cuándo puede no ser necesaria una biopsia de médula ósea en la estadificación?

La biopsia de médula ósea (MO) constituye una práctica estándar en la estadificación de los linfomas, si bien se la realiza aun cuando la probabilidad de compromiso medular sea excesivamente baja^(6,7). La alta sensibilidad del PET/TC para detectar el compromiso de la MO planteó el interrogante de si debía continuarse con la biopsia de MO en ciertas histologías⁽⁸⁾.

En el **linfoma de Hodgkin**, un estudio mostró que el 18% de los pacientes tuvieron lesiones esqueléticas focales en el PET/TC, pero sólo 6% tuvieron compromiso en la biopsia de MO, siendo en todos los casos pacientes con estadios avanzados en el PET/TC. Ninguno de los pacientes recibió un tratamiento diferente por el resultado de la biopsia de MO⁽⁹⁾.

Los pacientes con estadios localizados raramente tienen compromiso de médula ósea, especialmente en ausencia de imágenes sugestivas en el PET/TC. Se calcula que dicha afectación sólo se presenta en menos del 1% de los casos de pacientes con estadios IA y IIA.⁽¹⁰⁻¹²⁾

Los pacientes con estadios avanzados de linfoma de Hodgkin raramente muestran compromiso de MO en ausencia de síntomas sistémicos u otras evidencias de enfermedad extensa.

En una serie de 159 pacientes, el PET/TC mostró una sensibilidad y un valor predictivo negativo del 100%, con una especificidad del 68.9% y una tasa de exactitud del 74% para determinar compromiso medular. La ausencia de resultados falsos positivos

en el PET/TC, así como la regresión de la captación luego del tratamiento, serían indicadores de que el PET/TC podría reemplazar la biopsia de MO⁽¹³⁾.

Por lo tanto, en el linfoma de Hodgkin, si se realiza un PET/TC no sería necesario efectuar rutinariamente aspirado/biopsia de MO.

En el **linfoma difuso de células grandes**, el PET es más sensible que la biopsia de MO, pero puede ser incapaz de detectar el compromiso medular cuando éste es de bajo volumen (sólo 10 al 20% de infiltración). No obstante, los pacientes con estadios clínicos iniciales raramente muestran compromiso de MO en ausencia de hallazgos sugestivos en el PET/TC. En un estudio en linfomas difusos de células grandes, el 27% de los pacientes tuvieron compromiso de MO (94% detectado por PET/TC y 40% por biopsia). La biopsia de MO fue negativa en 21/28 pacientes con enfermedad focal en el PET/TC, y ello no aumentó el estadio de los pacientes. Dos casos (1.5%) tuvieron compromiso de MO por biopsia que no fue detectado en el PET, con una infiltración del 10% de células grandes. Por lo tanto el PET/TC para detectar compromiso de MO y estadio avanzado resulta generalmente suficiente, mientras que la biopsia de MO no sería requerida. Se debe tener en cuenta que los pacientes con compromiso de MO generalmente muestran otros factores indicativos de enfermedad avanzada o factores de mal pronóstico. En estos casos, si el PET/TC fuera negativo, se sugiere la biopsia de MO para detectar histologías discordantes, especialmente si ello fuera relevante para el manejo del paciente o por hallarse dentro de un trabajo de investigación clínica⁽¹⁴⁻¹⁷⁾.

En otras histologías los datos resultan insuficientes para cambiar la práctica estándar de realizar una biopsia unilateral en cresta iliaca con una muestra de material suficiente (2.5 cm) para histopatología, inmunohistoquímica y citometría de flujo.

La **micosis fungoides** en estadios iniciales, entendiendo por ellos a los estadios IA, IB y IIA de la clasificación TNM para MF, es decir pacientes con parches o placas que cubren menos del 10% de la superficie corporal (IA), parches o placas superficiales que comprometen más del 10% (IB), o con adenopatías pero con histología negativa para MF (IIA), tampoco requerirían la realización de la biopsia de médula ósea, dado la baja incidencia de compromiso medular en estas etapas iniciales de la enfermedad^(18,19).

2. ¿Cuándo no son mandatorios los estudios endoscópicos en un linfoma del manto?

El compromiso gastrointestinal constituye un hallazgo frecuente en linfoma del manto, si bien puede ser asintomático en la presentación, de modo que puede pasar desapercibido si no se realizan los estudios endoscópicos. Los síntomas gastrointestinales se encuentran presentes en aproximadamente la cuarta parte de los pacientes. Cuando se realizan los estudios endoscópicos, se puede hallar compromiso gastrointestinal en más del 80% de los casos, incluso mediante biopsias de mucosas macroscópicamente normales⁽²⁰⁾.

La mayor parte de los expertos no consideran mandatorio la investigación endoscópica sistemática en todos los pacientes, dado su modesto impacto en la decisión terapéutica. Se recomienda sólo en aquellos pacientes sintomáticos y lo suficientemente aptos para tolerar los estudios endoscópicos. También cuando se quiere definir si son pasibles de tratamiento localizado en los raros casos de estadios iniciales, y con el objeto de documentar remisión completa al final del tratamiento en pacientes incluidos en trabajos clínicos⁽²¹⁻²³⁾.

3. ¿Cuándo no son mandatorios los estudios de imágenes de SNC en pacientes con linfoma y riesgo de afectación del SNC?

Existe consenso entre los diversos autores sobre la necesidad de investigar sistemáticamente el líquido cefalorraquídeo obtenido por punción lumbar, a fin de realizar examen citológico y citometría de flujo multiparamétrica con citómetro de 8 colores, a todos los pacientes con diagnóstico de linfoma difuso de células grandes y factores de riesgo para la afectación del SNC según el CNS-IPI^(24,25).

El grupo PETHEMA recomienda la realización de estudios de imágenes (preferentemente RMN de SNC) sólo en los pacientes con síntomas neurológicos y/o con citología del LCR positiva, desestimando la realización sistemática de estudios de imágenes en pacientes asintomáticos por el solo hecho de tener factores de riesgo para compromiso del SNC⁽²⁶⁾.

4. ¿Cuándo deben interrumpirse los estudios de imágenes en el seguimiento?

Probablemente este aspecto sea uno en el que podemos aplicar más cabalmente los principios de la

prevención cuaternaria.

La cantidad de exposición a la radiación de un estudio por imágenes depende del examen que se utiliza y qué parte del cuerpo se estudia. Por ejemplo, una radiografía de tórax simple expone al paciente a alrededor de 0.1 mSv, que equivale aproximadamente a la misma cantidad de radiación a la que las personas están expuestas naturalmente durante unos 10 días. Una mamografía expone a una mujer a 0.4 mSv, lo que representa aproximadamente la cantidad de exposición a la radiación natural de fondo que una persona esperaría recibir en 7 semanas. Algunos otros estudios por imágenes tienen exposiciones más elevadas, por ejemplo una tomografía computada (TC) de abdomen y pelvis expone a una persona a alrededor de 10 mSv, mientras que un PET/TC expone aproximadamente a 25 mSv de radiación, lo que resulta equivalente a cerca de 8 años de exposición promedio a la radiación de fondo, según datos publicados por la FDA(27) (Tabla II).

Por lo anterior resulta fundamental hacer sólo aquellos estudios de imágenes que sean verdaderamente necesarios, tratando de limitar la exposición del paciente a todas las formas de radiación. En algunos estudios es posible cubrir ciertas partes del cuerpo que no requieren ser examinadas (ya sea con un delantal de plomo, o un collar de plomo o collar tiroideo para evitar la irradiación tiroidea).

Algunos centros de imágenes empiezan a incluir en sus informes el dato de la radiación suministrada en dicho estudio, de modo que sería posible que el paciente llevara un historial o registro de los procedimientos de imagenología médica, dato que podría compartir con sus médicos, a fin de prevenir la repetición de estudios.

La *European Society for Medical Oncology* y la *National Comprehensive Cancer Network* han publicado recomendaciones para el seguimiento de

los pacientes con linfomas, las cuales varían según diversos parámetros: histología (curables vs incurables), si el paciente se encuentra incluido en un trabajo de investigación clínica, o si es seguido de acuerdo al estándar de cuidado de la institución, y el momento clínico de la entidad (tratamiento inicial vs enfermedad recaída/refractaria, respuesta completa vs respuesta parcial al tratamiento)⁽²⁸⁻³⁰⁾.

En patologías curables como el linfoma de Hodgkin y el linfoma difuso de células grandes, la posibilidad de recaída decrece a lo largo del tiempo. La frecuencia del seguimiento recomendada es la siguiente: visitas cada 3 meses durante los primeros 2 años, cada 6 meses los 3 años siguientes y luego anualmente para monitorear la aparición de recaídas tardías o eventos adversos vinculados con el tratamiento.

En cambio, en los linfomas foliculares, en el linfoma del manto y en otras histologías consideradas incurables, la posibilidad de recaída continúa e incluso se incrementa con el paso del tiempo, de modo que los pacientes deben ser controlados cada 3 a 6 meses (de acuerdo a sus factores de riesgo pre tratamiento).

Para el seguimiento se recomienda una historia clínica cuidadosa, el examen clínico, hemograma, panel metabólico y dosaje de LDH.

Numerosos estudios publicados desaconsejan los estudios de imágenes de rutina durante dicho seguimiento. La tasa de falsos positivos con el PET/TC alcanza el 20%, lo cual deriva en investigaciones innecesarias, exposición a radiaciones, biopsias, ansiedad en los pacientes y costo económico. El seguimiento con imágenes sólo se justifica según juicio clínico y de acuerdo a condiciones individuales. En los trabajos de investigación clínica que tienen puntos finales tiempo-dependientes como la supervivencia libre de progresión o la supervivencia libre de eventos, la frecuencia de los estudios de imágenes (habitual-

Tabla II. Dosis de radiación en los estudios diagnósticos (FDA) (27)

Estudio diagnóstico	Dosis efectiva de radiación	Comparación con radiación natural de fondo
Rx de tórax	0.1 mSv	10 días
Mamografía	0.7 mSv	3 meses
TC abdomen	10 mSv	3 años
TC corporal total	10 mSv	3 años
TC tórax	8 mSv	3 años
PET/TC	25 mSv	8 años

mente TC de control) está determinada en el diseño del estudio.

En los linfomas indolentes, la progresión de enfermedad retroperitoneal o intra-abdominal asintomática puede ser una preocupación en los pacientes que han quedado con lesiones residuales luego del tratamiento. En estos pacientes debe utilizarse el juicio clínico para decidir la periodicidad de los estudios. En síntesis, en la práctica clínica deberíamos tratar de limitar el número TC a los que el paciente es expuesto⁽³¹⁻³⁸⁾.

Probablemente estos aspectos puedan ser resueltos en los próximos años mediante la biopsia líquida, la cual permite detectar la presencia de enfermedad activa varios meses antes de que pueda ser detectada clínicamente mediante los métodos convencionales⁽³⁹⁾.

Prevención cuaternaria en el tratamiento de los linfomas

Podrían enunciarse varias estrategias terapéuticas controversiales que no han demostrado superioridad y que sirven de ejemplo de prevención cuaternaria. No obstante, la discusión de las mismas sobrepasa los alcances del presente capítulo dado que aún son motivo controversia.

Sólo a modo de ejemplo se puede mencionar:

- Ocho ciclos de R-CHOP en lugar de 6 en el tratamiento del linfoma difuso de células grandes^(40,41).
- Mantenimiento con anticuerpos monoclonales anti CD20 en todos los linfomas indolentes (foliculares e indolentes no foliculares) vs. en una población se-

leccionada (ejemplo pacientes en remisión parcial o en RC pero con enfermedad mínima residual positiva). Algunos autores proponen que los pacientes con linfoma folicular en RC clínica post tratamiento de inducción podrían ser eximidos del mantenimiento si tienen EMR negativa. Esto resulta aún motivo de controversia. El grupo italiano de estudio de los linfomas está llevando a cabo un trabajo de investigación para responder esta pregunta (FOLL 12 Trial)⁽⁴²⁾.

- La radioterapia en el linfoma Hodgkin con PET interino o de fin de tratamiento negativos⁽⁴³⁻⁴⁵⁾.

Conclusiones

La decisión médica de aplicar una prueba diagnóstica, prescribir un medicamento, indicar una intervención quirúrgica u observar sin intervenir depende del balance entre el beneficio y el daño potencial. Resulta dificultoso establecer normas de prevención cuaternaria, aplicables universalmente, a todos los pacientes con patología linfoproliferativa, dado que siempre habrá pacientes que escaparán a la generalización, producto de la heterogeneidad intrínseca de la patología con sus variadas formas de presentación y evolución.

No obstante, en aquellas prácticas en las que existe evidencia suficiente para evitarlas en determinadas circunstancias clínicas del paciente, el esfuerzo debe estar dirigido a evitar los riesgos de una exposición innecesaria a metodologías diagnósticas y a tratamientos sin un claro beneficio y con riesgo potencial.

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

Bibliografía

1. Chan M. La prevención es la mejor opción para hacer frente a las enfermedades no transmisibles. Palabras de presentación ante el foro de la Red Mundial contra las Enfermedades No Transmisibles (NCDnet) Ginebra, 2010.
2. Bentzen N. Wonca dictionary of general/family practice. Copenhagen: Manedsskrift for Praktisk Lægegering; 2003.
3. Kopitowski K S. Prevención cuaternaria: se pueden y se deben limitar los daños por la actividad sanitaria. Rev Hosp Ital Bs As. 2013; 33 (3): 90-95.
4. Gervás Camacho J, Gavilán Moral E, Jiménez de Gracia L. Prevención cuaternaria: es posible (y deseable) una asistencia sanitaria menos dañina. AMF. 2012; 8: 312-327.
5. Martins C, Godycki-Cwirko M, Heleno B et al. Quaternary prevention: reviewing the concept. Quaternary prevention aims to protect patients from medical harm. Eur J Gen Pract. 2018; 24 (1): 106-111.
6. Cheson B, Fisher R, Lister A et al. Recommendations for the initial evaluation, staging and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: The Lugano

- Classification. *J Clin Oncol*. 2014; 32 (27): 3059-3067.
7. Lister TA, Crowther D, Sutcliffe SB et al. Report of a committee convened to discuss the evaluation and staging of patients with Hodgkin's disease: Cotswolds Meeting. *J Clin Oncol*. 1989; 7: 1630-1636.
 8. Moulin-Romsee G, Hindie E, Cuenca X et al. (18) F-FDG PET/CT bone /bone marrow findings in Hodgkin's lymphoma may circumvent the use of bone marrow trephine biopsy at diagnosis staging. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2010; 37: 1095-1105.
 9. El-Galaly TC, d'Amore F, Mylam KJ et al. Routine bone marrow biopsy has little or no therapeutic consequence for positron emission tomography/computed tomography-staged treatment-naïve patients with Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol*. 2012; 30: 4508-4514.
 10. Howell SJ, Grey M, Chang J et al. The value of bone marrow examination in the staging of Hodgkin's Lymphoma: A review of 955 cases seen in a regional cancer center. *Br J Haematol*. 2002; 119: 408-411.
 11. Howard MR, Taylor P, Lucraft H et al. Bone marrow examination in newly diagnosed Hodgkin's disease: Current practice in the United Kingdom. *Br J Cancer*. 1995; 71: 210-212.
 12. Cavalieri E, Anselmo AP, Gianfelici V et al. Is bone marrow trephine biopsy always mandatory in Hodgkin's disease?. *Haematologica*. 2005; 90: 134-136.
 13. Eser A, Pepedil Tanrikulu F, Sezgin A et al. The role of PET/CT to detect bone marrow involvement in Hodgkin's lymphoma. *Bezmialem Science*. 2019; 7 (2): 95-100.
 14. Berthet L, Cochet A, Kanoum S et al. In newly diagnosed diffuse large B cell lymphoma, determination of bone marrow involvement with 18F-FDG PET/CT provides better diagnostic performance and prognostic stratification than does biopsy. *J Nucl Med*. 2013; 54: 1244-1250.
 15. Khan AB, Barrington SF, Mikhaell NG et al. PET-CT staging of DLBCL accurately identifies and provides new insight into the clinical significance of bone marrow involvement. *Blood*. 2013; 122: 61-67.
 16. Adams HJ, Kwee TC, de Keizer B et al. FDG PET/CT for the detection of bone marrow involvement in diffuse large B cell lymphoma: Systematic review and meta-analysis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2014; 41: 565-574.
 17. Paone G, Itti E, Haioun C et al. Bone marrow involvement in diffuse large B cell lymphoma. Correlation between FDG-PET uptake and type of cellular infiltrate. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2009; 36: 745-750.
 18. Oslen E, Vonderheid E, Pimpinelli N et al. Revisions to the staging and classification of Mycosis fungoides and Sezary syndrome: a proposal of the International Society for Cutaneous Lymphomas (ISCL) and the Cutaneous Lymphoma Task Force of the European Organization of Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Blood*. 2007; 110: 1713-1722.
 19. Beylot-Barry M, Parrens M, Delaunay M et al. Is bone marrow biopsy necessary in patients with Mycosis fungoides and Sezary syndrome?. A histological and molecular study at diagnosis and during follow-up. *Br J of Dermatology*. 2005; 152 (6):1378-1379.
 20. Jain P, Wang M. Mantle cell lymphoma: 2019 update on the diagnosis, pathogenesis, prognostication and management. *Am J of Hematology*. 2019; 94 (6): 710-725.
 21. Ghelmini M, Zucca E. How I treat mantle cell lymphoma. *Blood*. 2009; 114: 1469-1476.
 22. Romaguera JE, Medeiros LJ, Hagemester FB et al. Frequency of gastrointestinal involvement and its clinical significance in mantle cell lymphoma. *Cancer*. 2003; 97: 586-591.
 23. Salar A, Juanpere N, Bellosillo B et al. Gastrointestinal involvement in mantle cell lymphoma: a prospective clinic, endoscopic, and pathologic study. *Am J Surg Pathol*. 2006; 30: 1274-1280.
 24. Schmitz N, Zeynalova S, Nickelsen M et al. CNC International Prognostic Index: A risk model for CNS relapses in patients with diffuse large B cell lymphoma treated with R-CHOP. *J Clin Oncol*. 2016; 34 (26): 3150-3156.
 25. Klanova M, Sehn L, Bence I et al. Integration of COO into the clinical CNS International Prognostic Index could improve CNS relapse prediction in DLBCL. *Blood*. 2019; 133 (9): 919-926.
 26. Peñalver FJ, Sancho JM, de la Fuente A et al. Guidelines for diagnosis, prevention and management of central nervous system involvement in diffuse large B cell lymphoma patients by The Spanish Lymphoma Group (GELTAMO). *Haematologica*. 2017; 102: 235-245.
 27. Reducing radiation from medical X-rays. US Food & Drug Administration.
 28. Cheson B, Pfistner B, Juweid ME et al. Revised response criteria for malignant lymphoma. *J Clin Oncol*. 2007; 25: 579-586.
 29. Ghelmini M, Vitolo U, Kimby E et al. ESMO guidelines consensus conference on malignant lymphoma 2011 part I: Diffuse large B cell lymphoma (DLBCL), follicular lymphoma (FL) and chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Ann Oncol*. 2013; 24: 561-576.

30. Zelenetz AD, Wierda WG, Abramson JS et al. Non Hodgkin's lymphomas, version 3.2012. J Natl Compr Canc Netw. 2012; 10: 1487-1498.
31. Riva E, Oliver C, Perez M et al. Current imaging follow-up of non-Hodgkin lymphoma exposes patients to significant radiation but does not detect asymptomatic relapses. Leuk Lymphoma. 2016; 57 (6): 1363-1366.
32. Troung Q, Shanh N, Knestrick M et al. Limited utility of surveillance imaging for detecting disease relapse in patients with non-Hodgkin lymphoma in first complete remission. Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2014; 14 (1): 50-55.
33. Picardi M, Pugliese N, Cirillo M et al. Advanced stage Hodgkin lymphoma: US/chest radiography for detection of relapse in patients in first complete remission. A randomized trial of routine surveillance imaging procedures. Radiology. 2014; 272 (1): 262-274.
34. Cheson B, Pfistner B, Juweid ME et al. Revised response criteria for malignant lymphoma. J Clin Oncol. 2007; 25: 579-586.
35. Jerusalem G, Beguin Y, Fassotte MF et al. Early detection of relapse by whole-body positron emission tomography in the follow-up of patients with Hodgkin's disease. Ann Oncol. 2003; 14: 123-130.
36. Liedtke M, Hamlin PA, Mosowitz CH et al. Surveillance imaging during remission identifies a group of patients with more favorable aggressive NHL at time of relapse: A retrospective analysis of a uniformly-treated patient population. Ann Oncol. 2006; 17: 909-913.
37. Zinzani PL, Stefoni V, Tani M et al. Role of (18F) fluorodeoxyglucose positron emission tomography scan in the follow-up of lymphoma. J Clin Oncol. 2009; 27: 1781-1787.
38. Cheson BD. Hodgkin lymphoma: Protecting the victims of our success. J Clin Oncol. 2013; 30: 4456-4457.
39. Melani C, Wilson W, Roschewski M. Liquid biopsy in Non-Hodgkin's Lymphoma. Hematological Oncology. 2019; 37 (S1): 70-74.
40. Wästerid T, Biccler JL, de Nully Brown P et al. Six cycles of R-CHOP 21 are not inferior to 8 cycles for treatment of diffuse large B cell lymphoma. A Nordic Lymphoma Group population based study. Ann Oncol. 2018; 29 (8): 1882-1883.
41. Shang A, Black J, Surinach A et al. Front-line treatment of DLBCL with 6 versus 8 cycles of R-CHOP is not associated with inferior survival in elderly patients: results from a retrospective analysis of the Seer-Medicare Database. Poster EHA 2018.
42. Gerra L, Bergesio F, Versari A et al. Interim analysis of central review of end of therapy PET in FOLL 12 Trial for follicular lymphoma. Hematol Oncol. 2019; 37 (52).
43. Radford J, Illidge T, Counsell N et al. Results of a trial of PET-directed therapy for early-stage Hodgkin's lymphoma. New Eng J Med. 2015; 372 (17): 1598-1607.
44. LaCasce A, Johnson P. Using Interim PET to direct therapy for early Hodgkin lymphoma: results from the trials. The Hematologist. 2016; 13.
45. Savage K, Connors J, Villa D et al. Advanced stage classical Hodgkin lymphoma patients with a negative PET-Scan following treatment with ABVD have excellent outcomes without the need for consolidative radiotherapy regardless of disease bulk at presentation. Blood. 2015; 126: 579.



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.

Dificultades en el diagnóstico de linfomas agresivos

Difficulties in the diagnosis of aggressive lymphomas

Vijnovich Baron A.

Centro de Patología y Citología CEPACIT

avijnovich@intramed.net



**CONTROVERSIAS
EN LINFOMAS
AGRESIVOS**

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 146-151
Octubre 2019

Palabras claves: patología,
linfomas agresivos.

Keywords: aggressive lymphomas,
pathology.

Dificultades en el diagnóstico de linfomas agresivos

Los linfomas agresivos, también llamadas neoplasias agresivas de células B, corresponden a varias entidades, las que comprenden: un gran grupo de linfomas difusos de células grandes B (LDCGB), el linfoma de Burkitt, los recientemente descriptos “linfomas de alto grado” y el linfoma inclasificable entre LDCGB y linfoma de Hodgkin. El anteriormente llamado “linfoma inclasificable con características intermedias entre LDCGB y linfomas de Burkitt” ha quedado incluido en la nueva revisión de la WHO dentro de los linfomas de alto grado⁽¹⁾.

El LDCGB se subdivide en variantes morfológicas, subtipos moleculares y entidades distintivas (Tabla 1), sin embargo muchos casos son biológicamente heterogéneos sin criterios claros para su subdivisión, los cuales son clasificados como LDCGB, NOS y no pertenecen a una categoría diagnóstica específica. Éstos se subdividen, en base a la célula de origen, en subtipo de células B centro germinales y subtipo de células B activadas (no centro germi-

nal)⁽²⁾.

La clasificación de 2008 reconocía dos grupos de LDCGB basados en la expresión del perfil génico: “centro germinal” y de “células activadas”, así como un grupo que no podía ser incluido entre estas dos categorías (inclasificables)⁽³⁾. Separadamente reconocía por inmunohistoquímica (IHQ) los subgrupos “centro germinal” y “no- centro germinal” basados en el algoritmo de Hans mediante la utilización de los anticuerpos CD10, BCL6 e IRF4/MUM-1⁽⁴⁾. La separación por IHQ no demostraba correlacionarse exactamente con las categorías moleculares y no determinaba la decisión terapéutica. Por esta razón, en 2008 la subclasificación de los subgrupos NOS era considerada opcional. La investigación de nuevas estrategias terapéuticas renovó el interés en la categorización de estos dos subtipos mediante inmunohistoquímica. En la actualización de 2017 se requiere la identificación de estos subtipos por IHQ hasta que la determinación del perfil génico sea incorporada en la rutina diagnóstica⁽²⁾. El algoritmo de Hans es el más popular, si bien pueden

Tabla 1

Linfomas de células grandes B²

- Linfoma difuso de células grandes B, NOS
 - Variantes morfológicas
 - Centroblástico
 - Inmunoblástico
 - Anaplásico
 - Otras, raras
- Subtipos Moleculares
 - Célula B centro germinal
 - Célula B activada

Otros linfomas de células grandes B

- Linfoma B rico en células T/ histiocitos
- Linfoma primario difuso de células grandes B del sistema nervioso central
- Linfoma primario cutáneo difuso de células grandes B, tipo de la pierna
- Linfoma difuso de células grandes B, EBV positivo, NOS
- Linfoma difuso de células grandes B asociado a inflamación crónica
- Granulomatosis linfomatoidea
- Linfoma de células grandes B asociado a reordenamiento de IRF4
- Linfoma de células grandes B primario mediastinal (tímico)
- Linfoma difuso de células grandes B intravascular
- Linfoma difuso de células grandes B, ALK positivo
- Linfoma plasmablástico
- Linfoma difuso de células grandes B HHV-8+*
- Linfoma primario de efusiones

Linfomas de células grandes B de alto grado

- Linfoma de células B de alto grado con reordenamiento de *MYC*, *BCL2* y/o *BCL6*.
- Linfoma de células B de alto grado, NOS

Linfoma de células B inclasificable

- Linfoma de células B, inclasificable con características intermedias entre linfoma difuso de células grandes B y linfoma Hodgkin clásico

utilizarse otros.

¿Qué debe hacer el patólogo cuando en una biopsia ve células grandes?

Cuando el estudio anatomopatológico muestra una proliferación difusa de células de aspecto linfoide, de tamaño grande, con citoplasma escaso, núcleos grandes, vesiculosos, con uno a dos nucléolos apoyados en la membrana nuclear o nucléolo central de mayor tamaño, podemos reconocer morfológicamente que se trata de una neoplasia y, probablemente, linfoma. En algunos casos resulta claro el aspecto linfoide, mientras que en otros puede ser tan indiferenciado que es necesario determinar la estirpe de la neoplasia y comenzar por un panel básico de inmu-

nohistoquímica (IHQ). Éste comprende en primer lugar el análisis de tres marcadores, basándose en la frecuencia de los tumores. Para identificar los tumores epiteliales, utilizamos citoqueratinas de alto y bajo peso molecular, para los hematológicos el CD45 (antígeno común leucocitario) y S-100 para descartar al melanoma, tumor que siempre debemos tener en cuenta, ya que es considerado uno de los grandes simuladores.

Si el CD45 es positivo, seguimos por identificar si la neoplasia es B o T, utilizando CD20 y CD3 respectivamente. Posteriormente, determinar célula de origen y completar profundizando con la determinación de otros marcadores. No se mencionaran en

este texto otras neoplasias hematológicas con células grandes como sarcoma mieloide, etc.

Cabe una aclaración, y es que se recomienda que los linfomas sean diagnosticados por patólogos con experiencia en el tema, dada la dificultad diagnóstica y los frecuentes errores de interpretación de los mismos. Un hecho no poco habitual es el diagnóstico de “linfoma de alto grado” con el hallazgo exclusivamente de células grandes por morfología y una marcación con CD20. Esto puede llevar a confusión y, peor aun, a un sobretratamiento del paciente.

Actualmente “linfoma de alto grado” se define como un grupo de linfomas agresivos que, por razones biológicas y clínicas, no deben ser clasificados como LDCGB NOS o linfoma, de Burkitt⁽⁵⁾.

¿Qué información adicional debe esperar el hematólogo del patólogo frente a un linfoma de células grandes B?

Cuando se ha determinado que el linfoma de células grandes es B,

1) se debe determinar la célula de origen según algoritmo de Hans⁽⁴⁾, para lo cual se continúa el estudio de IHQ con CD10 y BCL-6 (origen centro germinal folicular) y MUM-1 (origen post germinal o no centro germinal). Éstos se consideran positivos cuando se expresan en 30% o más de las células tumorales⁽²⁾.

2) se debe completar con otros marcadores que darán una idea de la agresividad tumoral: BCL-2, cuya expresión varía entre 47-84% y es considerado positivo en la mayoría de los estudios cuando lo expresan 50% o más de las células tumorales, y MIB-1 (nombre del Ki67 en parafina) que determina el índice de proliferación. Usualmente es alto, mayor de 40% y en algunos casos mayor de 90%⁽²⁾.

3) junto con estas determinaciones o seguidas de ellas de acuerdo a los resultados, se debe realizar por IHQ el marcador c-myc, el cual también está relacionado con la agresividad. Éste es considerado positivo si se expresa en 40% o más de las células tumorales⁽⁶⁾.

¿Qué es un linfoma “doble / triple hit”?

Hace pocos años aparece el concepto de “linfomas doble / triple hit” (DH/TH) y se define por la presencia del reordenamiento de los genes *MYC* y *BCL-2* / ~ 30% *BCL-6* mediante métodos citogenéticos y/o FISH. El 4 a 8% de todos los LDCGB son DH/TH.

Inicialmente se decía que no correspondía a un tipo de linfoma de la clasificación WHO. En la nueva edición de la clasificación, los linfomas DH/TH corresponden a uno de los tipos de linfomas de alto grado de células B.

Quedan excluidos de linfomas DH/TH:

- linfomas de células del manto con reordenamiento de *CCD-1* y *MYC*,

- linfomas foliculares (LF) (2%) con reordenamiento de *MYC* y *BCL2*,

- leucemias linfoblásticas B con *R-MYC*.

Existe controversia acerca de en qué pacientes con diagnóstico de LDCGB deberían investigarse los mencionados reordenamientos mediante técnicas de FISH. Algunos patólogos sugieren que sean efectuados en todos los LDCGB -lo cual sería muy costoso-, mientras que otros sugieren realizarlos mediante una selección de casos en base a la presentación clínica y a aspectos anatomopatológicos. En cuanto a la presentación clínica, se debe considerar en pacientes que se presenten con enfermedad diseminada, con compromiso de SNC o leucémico. La selección en base a la patología tiene en cuenta la morfología de linfoma inclasificable entre LDGCB y Burkitt y los LDCGB con fenotipo principalmente centro germinal. En cuanto a la expresión de bcl-2, c-myc y MIB-1 por IHQ, existen controversias en la determinación de los porcentajes de marcación. A pesar de ello se ha tomado como punto de corte expresión de BCL-2 $\geq 50\%$, de MYC $\geq 40\%$ y de Ki67 $\geq 80\%$ ⁽⁷⁾.

¿Qué es un linfoma “doble expresor”?

Se define por presentar expresión de MYC y BCL2 detectado por métodos inmunohistoquímicos. Los puntos de corte son los mencionados anteriormente: BCL-2 $\geq 50\%$, MYC $\geq 40\%$.

Son clínicamente agresivos, pero menos que los DH/TH^(8,9), la mayoría corresponden a células no centro germinales⁽¹⁰⁾.

El 80%-90% de los linfomas “DH/TH” son “doble expresores”, mientras que < 20% de los “doble expresores” son “DH/TH”.

El linfoma “doble expresor” no es una entidad ni una categoría independiente⁽¹¹⁾.

Se calcula que 25% a 35% de los linfomas DCGB son doble expresores.

¿A qué se llama linfoma de alto grado?

Como se comentó anteriormente, “linfoma de alto

grado” se define como un grupo de linfomas agresivos que, por razones biológicas y clínicas, no deben ser clasificados como LDCGB NOS o linfoma de Burkitt⁽⁵⁾.

La actualización de la clasificación de 2017 sustituye la categoría “linfoma de células B inclasificable (LCBI) con características intermedias entre LCGB y linfoma de Burkitt”, por linfoma de células B de alto grado, dejando la denominación LCBI no para una entidad, sino sólo para el aspecto morfológico de algunos linfomas de alto grado.

El aspecto morfológico puede ser el de un DCGB, LCBI, blastoide y aun remedar el de un linfoma de Burkitt (Figura 1).

El linfoma de Burkitt característicamente muestra patrón de “cielo estrellado”, células de tamaño mediano, núcleos redondeados con dos a cinco nucléolos, es bcl-2 negativo y presenta un MIB-1 > 95%. Un caso con estas características, pero con expresión de bcl-2, debe generar la sospecha de tratarse de un linfoma de células B de alto grado.

Se reconocen dos tipos de linfomas de células B de alto grado.

Linfomas de células B de alto grado con reordenamientos de MYC y BCL2 o BCL6 (“doble/triple

hit”)

Éste es un linfoma agresivo que contiene reordenamiento de *MYC* en el cromosoma 8q24, reordenamiento de *BCL2* en el cromosoma 18q21 y/o de *BCL6* en el cromosoma 3q27. Éstos reciben el nombre de DH/TH y deben tener *RMYC* y *BCL2* y/o *BCL6*.

No están incluidos casos de linfoma folicular, manto o linfoblástico con *RMYC*.

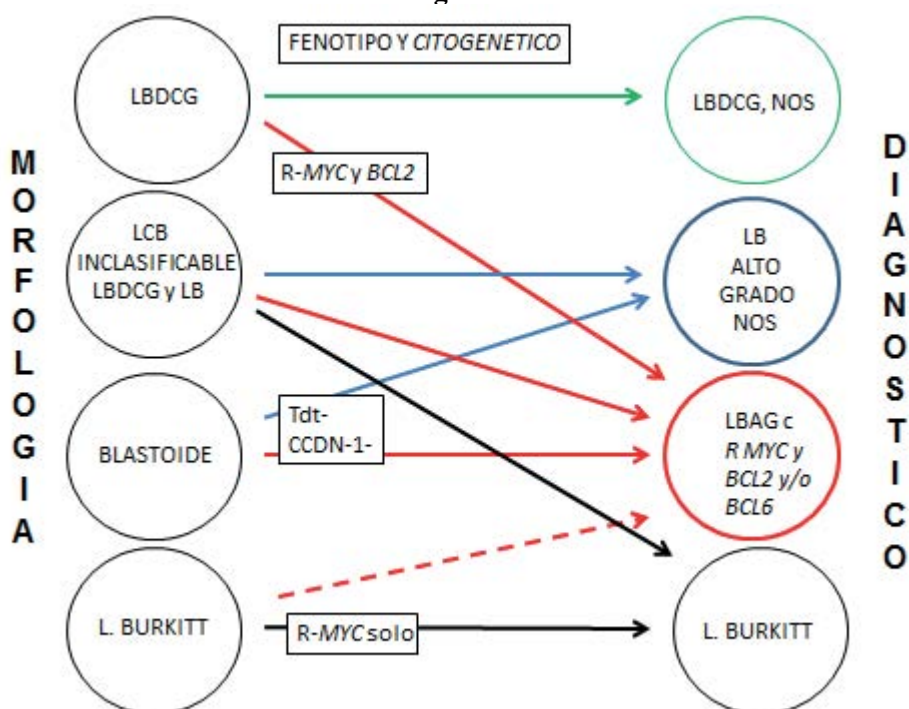
Esta categoría incluye:

- 1- linfomas DH previamente clasificados como “inclasificables con características intermedias entre DCGB y Burkitt”,
 - 2- linfomas blastoides DH,
 - 3- con morfología de LDCGB NOS que luego de la evaluación del reordenamiento presentan DH/TH.
- Se debe especificar entonces la morfología: LDCGB, LCBI o blastoide.

El tipo blastoide recibe esa denominación por su aspecto similar al linfoblasto y debe descartarse mediante IHQ un linfoma linfoblástico (TDT+) y la variante blastoide de un linfoma de células del manto (CCD-1+).

Casi el 100% de los linfomas DH con *RMYC* y *BCL2* son centro germinales y entre 20% y 50% de los DH con *RMYC* y *BCL6* son no centro germinales

Figura 1



por IHQ⁽¹¹⁾.

Es importante distinguir un LCDGB con doble expresión de MYC y BCL2 -que no constituye una categoría diagnóstica-, de un linfoma de alto grado con *RMYC* y *BCL2* y/o *BCL6*, el cual, además, es frecuentemente también doble expresor.

Ser “doble expresor”, no significa ser “doble *hit*”.

Hay cierta controversia en cuanto al valor del porcentaje de positividad de MIB-1 (Ki67), dado que hay casos en este grupo -con morfología de DCGB-, que pueden tener sólo un 30% de positividad. Algo similar ocurre con la expresión de c-myc por IHQ y algunos autores no la consideran confiable para la selección de casos para realizar FISH por las variaciones de expresión⁽¹¹⁾, sin embargo se sugiere realizar FISH cuando la expresión de c-myc sea mayor del 30% a 40%⁽⁵⁾.

Linfomas de células B de alto grado, NOS

Es una categoría heterogénea de linfomas agresivos, con ausencia de *R-MYC* y *BCL2* o *BCL6* (“doble/triple *hit*”).

La morfología es de LCBI o blastoide.

Excluye los DCGB NOS.

El inmunofenotipo no está bien descrito, dado que anteriormente se incluían casos con reordenamiento, es decir DH/TH que eran diagnosticados como DCGB.

La mayoría expresa BCL-6, el CD10 es variable y MUM-1 está generalmente ausente. La expresión de c-myc y MIB-1 es variables.

Los DCGB con ausencia de reordenamiento de *MYC*, *BCL-2* Y *BCL-6*, aunque presenten translocación aislada de *MYC*, deben ser clasificados como DCGB⁽⁵⁾.

De lo que unos “proponen” y de lo que otros “disponen”...

Un grupo de hematopatólogos del MD Anderson ha publicado un algoritmo para el diagnóstico inicial de cada nuevo caso de linfoma DCGB que incluye evaluación morfológica, determinación inmunofenotípica por citometría de flujo o inmunohistoquímica para diagnóstico y pronóstico, estudio citogenético (cariotipo y FISH) y estudios moleculares para detectar alteraciones genéticas. Ellos postulan que limitar el test de FISH para un grupo de pa-

cientes con determinados criterios va a disminuir el número de estudios de FISH, pero con el riesgo de perder un número considerable de casos DH/TH. Considerando la alta tasa de pacientes refractarios y los altos costos de los tratamientos, recomiendan realizar FISH en todo nuevo caso de LDCGB, el cual finalmente resultaría “costo-efectivo”. Proponen comenzar con FISH para *RMYC*; si éste resultara negativo detener el estudio en esa instancia, si resultara positivo, seguir con *RBCL-2*⁽¹³⁾.

Si bien la iniciativa es razonable, por el momento no es posible realizar esto en todos los centros, pero si hoy, en nuestro medio, el hematólogo debe saber qué puede responder el patólogo en relación a los linfomas agresivos:

- 1- ¿Es linfoma no Hodgkin?
- 2- ¿Qué aspecto morfológico presenta?
 - a. difuso de células grandes B
 - b. inclasificables entre DCGB y Burkitt
 - c. blastoide
- 3- ¿Cuál es la célula de origen?
 - a. centro germinal (CD10+, BCL-6+)
 - b. no centro germinal (MUM-1+)
- 4- Con inmunohistoquímica qué porcentaje de las células expresa
 - a- BCL-2
 - b- MIB-1 (Ki67)
 - c- c-myc
- 5- En base a la anatomía patológica debe ser seleccionado para FISH cuando por IHQ el linfoma expresa en las células tumorales
 - a- BCL-2 $\geq$ 50%
 - b- MIB-1 $\geq$ 90% (30% a 100%)
 - c- C-myc $\geq$ 40% (30% a 100%)
- 6- ¿Cuál es el diagnóstico?
 - a- linfoma DCGB NOS
 - b- linfoma de alto grado con R-CMYC, BCL2 y/o BCL6
Morfología de: DCGB, “inclasificable entre DCGB y LB” o blastoide.
 - c- linfoma de alto grado NOS
Morfología de: “inclasificable entre DCGB y LB” o blastoide.

Las respuestas a estas preguntas serán el aporte desde la patología para ubicar al hematólogo a qué se enfrenta para tomar la mejor decisión terapéutica.

Conflictos de interés: La autora declara haber recibido invitación por parte de Takeda para concurrir a workshop de linfomas.

Bibliografía

1. Swerdlow S, Campo E, Pileri S et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127(20):2375-2390.
2. Gascoyne R, Campo E, Jaffe ES et al. Diffuse Large B-cell lymphoma, NOS. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H Thiele J (Eds): *WHO Classification of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues (Revised 4th edition)*. 2017 p 291-297. IARC: Lyon.
3. Rosenwald A, Wright G, Chan WC et al. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 2002;346:1937-1947.
4. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood*. 2004;103 (1):275-282.
5. Kluin PM, Harris NL, Stein H et al. High grade B-cell lymphoma. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H Thiele J (Eds): *WHO Classification of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues (Revised 4th edition)*. 2017 p 335-341. IARC: Lyon.
6. Mahmoud AZ, George TI, Czuchlewski DR et al. Scoring of MYC protein expression in diffuse large B-cell lymphomas: concordance rate among hematopathologists. *Mod Pathol*. 2015 Apr;28(4):545-51.
7. Swerdlow SH. Diagnosis of 'double hit' diffuse large B-cell lymphoma and B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between DLBCL and Burkitt lymphoma: when and how, FISH versus IHC. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2014;2014(1):90-99.
8. Valera A, López-Guillermo A, Cardesa-Salzmänn T et al. MYC protein expression and genetic alterations have prognostic impact in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with immunochemotherapy. *Haematologica*. 2013 Oct;98(10):1554-62.
9. Hu S, Xu-Monette ZY, Tzankov A et al. MYC/BCL2 protein coexpression contributes to the inferior survival of activated B-cell subtype of diffuse large B-cell lymphoma and demonstrates high-risk gene expression signatures: a report from The International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program. *Blood*. 2013;121(20):4021-4031.
10. Rosenthal A, Younes A. High grade B-cell lymphoma with rearrangements of MYC and BCL2 and/or BCL6: Double hit and triple hit lymphomas and double expressing lymphoma. *Blood Reviews*. 2017;37:37-42.
11. Novo M, Castellino A, Nicolosi M et al. High-grade B-cell lymphoma: how to diagnose and treat. *Expert Rev Hematol*. 2019 Jul;12(7):497-506.
12. Obermann EC, Csato M, Dirnhofer S et al. Aberrations of the MYC gene in unselected cases of diffuse large B-cell lymphoma are rare and unpredictable by morphological or immunohistochemical assessment. *J Clin Pathol*. 2009; 62(8): 754-6.
13. Li S, Lin P, Medeiros LJ. Advances in pathological understanding of high-grade B cell lymphomas. *Expert Rev Hematol*. 2018 Aug;11(8):637-648.



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.

Tratamiento de síndromes mielodisplásicos de alto riesgo y experiencia en agentes hipometilantes

Treatment of high-risk myelodysplastic syndromes and hypomethylating agents experience

Lazzarino CP

Lugar de trabajo: HIGA Dr. Diego Paroissien

carolinalazzarino@hotmail.com



**MODELOS DE
PROYECTOS
COOPERATIVOS:
EXPERIENCIA EN
SMD Y LEUCEMIAS
AGUDAS**

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 152-160
Octubre 2019

Palabras claves: síndromes mielodisplásicos, agentes hipometilantes, alto riesgo.

Keywords: myelodysplastic syndromes, hypomethylating agents, high risk.

Introducción

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades clonales de las células progenitoras hematopoyéticas de la médula ósea (MO) caracterizados por hematopoyesis ineficaz, citopenia(s) periférica(s), displasia en uno o más de los linajes celulares, acompañado de anormalidades genéticas recurrentes y riesgo aumentado de evolucionar a leucemia mieloide aguda (LMA). Esta enfermedad afecta principalmente a adultos mayores, aumentando su incidencia con la edad, siendo de 20 por cada 100.000 habitantes en mayores de 70 años⁽¹⁾.

La terapéutica depende no sólo de la estratificación según el pronóstico, sino también de la valoración de las características del paciente. En muchos casos,

la edad avanzada o la presencia de comorbilidades, entre otros, puede limitar las aproximaciones más intensivas como el trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas (TACPH).

Para discriminar el riesgo de progresión a LMA y sobrevida se utilizan distintos modelos predictivos. En primera instancia, el Índice Pronóstico Internacional (IPSS) clasificó a los pacientes en bajo riesgo (bajo e intermedio-1) y alto riesgo (intermedio-2 y alto) según un puntaje determinado por el número de citopenias, el porcentaje de blastos en MO y el cariotipo⁽²⁾. Posteriormente, se desarrolló una versión revisada del IPSS (IPSS-R) que estratifica a los pacientes en cinco grupos de riesgo con las diferentes medianas de sobrevida global y progresión a

leucemia. Este modelo considera la profundidad de las citopenias, cinco categorías citogenéticas y un nuevo límite de 2% para los blastos en MO⁽³⁾. Este sistema define un nuevo grupo de riesgo intermedio, el cual ha generado ciertos dilemas en la estratificación. Por ende, a fines terapéuticos, se sugiere el valor de $\leq 3,5$ para diferenciar a los pacientes de bajo riesgo, que presentarían cierta estabilidad en el tiempo, de los pacientes de alto riesgo inicial con un puntaje superior a 3,5⁽⁴⁾.

Los avances dentro del campo de la tecnología para el estudio molecular han favorecido la identificación de mutaciones somáticas durante el desarrollo de la patología. Algunas de las cuales presentan valor pronóstico independiente. Nazha y col. sugirieron un modelo predictivo combinando mutaciones de los genes SF3B1, TP53 y EZH2 con el IPSS-R y la edad⁽⁵⁾. Por su parte, Tefferi y col. desarrollaron un modelo (*Mayo Alliance Prognostic Model*) que incluye criterios clínicos, moleculares y citogenéticos ajustados por edad, donde se destaca el mal pronóstico de la presencia de mutaciones en RUNX1 y ASXL1, y de la ausencia en SF3B1. En dicho modelo, no se incluyeron las mutaciones en TP53, ya que perdieron valor predictivo al incluirse el cariotipo monosomal⁽⁶⁾.

Actualmente, la toma correcta de decisiones es un desafío, ya que no sólo influye la posibilidad de determinar con exactitud el pronóstico a nivel individual, sino que se debe tener en cuenta las comorbilidades, la capacidad funcional y la fragilidad de cada paciente.

Tratamiento de SMD de alto riesgo

El principal objetivo del tratamiento del paciente de alto riesgo es modificar el curso natural de la enfermedad, limitando la progresión y mejorando la sobrevida global⁽⁷⁾. A continuación, se describen algunas estrategias actualmente disponibles para afrontar el mejor tratamiento para cada individuo.

1. Trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas

En primera instancia, se debe evaluar si el paciente es candidato a TACPH, que actualmente es la única opción curativa para esta patología. Es fundamental una correcta selección basada en las características de la patología y en las variables asociadas al paciente.

Se considera la estrategia de elección en el grupo de riesgo IPSS int-2 y alto (IPSS-R intermedio- alto y muy alto) y, como opción, en los que presentan puntaje correspondiente a bajo riesgo con mayor riesgo citogenético, citopenias profundas y alto requerimiento transfusional, teniendo en consideración el Índice de Comorbilidades del paciente (HCT-CI) para tomar la decisión⁽⁸⁾.

Recientemente, se ha descripto un modelo pronóstico para pacientes con SMD del registro de *European Society for Blood and Marrow Transplantation* mostrando cuatro grupos de riesgo con diferente sobrevida y riesgo de recaída. Las variables incluidas son la edad ≥ 50 años, índice de Karnofsky $<90\%$, el cariotipo muy pobre o monosomal, citomegalovirus positivo en el receptor, blastos $>1\%$ y el recuento de plaquetas $\leq 50.000/\mu\text{L}$ previos al trasplante⁽⁹⁾.

También se han considerado otros parámetros en otros modelos predictivos con el mismo objetivo, como el riesgo por IPSS-R, la refractariedad a la quimioterapia y el HCT-CI⁽¹⁰⁾, y otros puntos de corte para la edad y blastos⁽¹¹⁾.

En relación al régimen de acondicionamiento, se realizó un estudio clínico randomizado fase III prospectivo comparando el acondicionamiento mieloablativo (MAC) con el régimen de intensidad reducida (RIC), en 129 pacientes con SMD de 18 a 64 años, donde no se observaron diferencias a 2 años en términos de sobrevida global (63,2% vs 76,3%) ni en recaída (14,8% vs 17,0%)⁽¹²⁾.

Otro estudio prospectivo randomizado fase III comparando MAC vs RIC incluyó 272 pacientes con LMA y SMD con bajo puntaje del HCT-CI y menos de 5% de blastos en la médula ósea. Al considerar los pacientes con SMD (27 en cada rama), se observaron diferencias en la incidencia acumulada de recaída a los 18 meses (3,7% vs 37%) sin diferencias en la sobrevida global ni sobrevida libre de recaída a 18 meses⁽¹³⁾. Por ello, MAC continúa siendo la primera elección para los candidatos más aptos. Sin embargo, en pacientes con comorbilidades o menor capacidad funcional, RIC podría ser una estrategia válida^(13,14).

La terapia puente pre TACPH se utiliza cuando se requiere reducir la carga tumoral y en casos de demora al TACPH, especialmente para aquellos pacientes que realizarán un RIC⁽¹⁴⁾. También se beneficiarían con quimioterapia intensiva aquellos candidatos aptos, menores de 60 a 65 años y con más de 10%

de blastos en la MO, sin anomalías citogenéticas de alto riesgo⁽¹⁵⁾.

Para este fin, frecuentemente, se utilizan los agentes hipometilantes (AHM) que han demostrado menor toxicidad que esquemas de quimioterapia intensiva en estudios retrospectivos⁽¹⁶⁾. En estos casos, la respuesta al AHM es relevante: la falla al tratamiento se asocia a mayor riesgo de recaída post TACPH⁽¹⁷⁾. En un estudio fase II prospectivo se observó que la respuesta a la azacitidina (AZA) como puente pre TACPH influiría en la sobrevida global y en la sobrevida libre de progresión⁽¹⁸⁾. Otro factor fundamental a tener en consideración es el tiempo al trasplante⁽¹⁹⁾.

2. Agentes hipometilantes

En pacientes de alto riesgo que no son candidatos a tratamientos más intensivos, los agentes hipometilantes (AHM) constituyen la terapéutica de primera elección, así como en pacientes de bajo riesgo con dependencia transfusional o al profundizar las citopenias⁽²⁰⁾. Los más utilizados son AZA y la decitabina (DAC), con demostrada hipometilación in vitro e in vivo y reexpresión de genes silenciados patológicamente por metilación aberrante del ADN. Esta actividad se asocia con inestabilidad genómica, aumento de la frecuencia de mutaciones, anomalías cromosómicas y activación de retrovirus, entre otras⁽²¹⁾.

En un ensayo clínico fase III (AZA-001), multicéntrico, controlado, randomizado de 358 pacientes con SMD de alto riesgo, la rama de AZA obtuvo una mediana de sobrevida global de 24,5 meses comparado con 15 meses en la rama de tratamiento con quimioterapia, bajas dosis de citarabina o soporte, con un retraso en la progresión a LMA⁽²²⁾.

En un análisis posterior de la cohorte de AZA 001, se sugirió que el tiempo mínimo óptimo para evaluar los objetivos del tratamiento sería de 6 ciclos, considerando que el 91% de las respuestas ocurrieron en este período. A pesar de ello, en los pacientes con enfermedad estable, la continuidad del tratamiento podría traducirse en una primera respuesta posterior⁽²³⁾.

La DAC fue inicialmente evaluada en 2006 en un ensayo clínico fase III, randomizado, multicéntrico, donde fue superior a la rama de mejor soporte disponible. Se observó una respuesta completa (RC) o parcial (RP) en el 17% de los pacientes, mejoría

hematológica (MH) en un 30%, y un aumento en la sobrevida global en la rama de la intervención (12 m vs 6,8 m)⁽²⁴⁾.

En otro ensayo clínico fase III se evaluó la dosis de 20 mg/m² por 5 días. Se obtuvo una tasa de respuesta global (incluyendo MH) de 51%, la cual fue alcanzada en el 82% de los pacientes durante los primeros 2 ciclos. Se observó, además, un 73% de respuesta en pacientes con leucemia mielomonocítica crónica (LMMC)⁽²⁵⁾.

Ambas drogas fueron evaluadas mediante un meta-análisis que incluyó 1392 pacientes arrojando un porcentaje de RC similares, con mayor tasa de RP y MH para AZA comparado con mejor soporte disponible⁽²⁶⁾.

Sin embargo, DAC y AZA serían comparables en relación a la respuesta. Se considera que mediante la utilización de ambas drogas, se alcanzaría una tasa de respuesta global de 40-50%. El problema surge al considerar su corta duración, por lo que se requiere la identificación de factores pronósticos en relación al tratamiento con AHM⁽⁷⁾.

Se ha descrito un modelo predictivo de sobrevida bajo tratamiento con AZA, validado en la serie de pacientes de AZA-001, que incluye el estado funcional (PS) >2, el citogenético de intermedio y alto riesgo, la presencia de blastos circulantes y la dependencia transfusional. En este mismo estudio, la corta duración de la respuesta se asoció al cariotipo complejo, blastos >15% en MO y el hecho de no haber obtenido respuesta a tratamientos previos con bajas dosis de citarabina⁽²⁷⁾.

La evolución de estos pacientes frente al fallo del AHM es muy adversa, con una mediana de sobrevida global de 4,3-5,6 meses. Se ha publicado un modelo pronóstico para predecir sobrevida con parámetros como el PS, cariotipo muy adverso, la edad al diagnóstico, los blastos en médula ósea, dependencia transfusional y plaquetas <30000/μL, dividiendo la población según el puntaje en una mediana de sobrevida de 11,0 m vs 4,5 m⁽²⁸⁾.

Experiencia latinoamericana en AHM como modelo de proyecto cooperativo

Como iniciativa de la Subcomisión de SMD de la Sociedad Argentina de Hematología, y en conjunto con el GLAM (Grupo Latinoamericano de SMD), se analizó una cohorte retrospectiva de pacientes de la vida real que recibieron al menos un ciclo com-

pleto de HMA entre noviembre-07 y enero-17. En el año 2017, se habían seleccionado 221 pacientes de Brasil, Colombia, Uruguay y Argentina. La edad mediana de toda la cohorte fue de 70 años y la mayoría correspondía a sexo masculino. Realizaron una mediana de 6 ciclos de HMA (1-52) obteniendo una tasa de respuesta global de 70% incluyendo enfermedad estable. La mediana de sobrevida global fue de 25 meses y la de sobrevida libre de leucemia de 13 meses. La mediana de sobrevida desde el inicio del tratamiento fue de 18 meses y desde la finalización del mismo, de 5 meses. La tasa de mortalidad fue 64%, con 84% de ellas relacionadas a SMD⁽²⁹⁾. De esta cohorte se seleccionaron 109 pacientes de alto riesgo al diagnóstico para evaluar las variables que influyeron en la sobrevida de este subgrupo de pacientes. Se clasificaron por IPSS y se incluyeron LMMC, SMD secundarios y otras NMP/SMD, sin diferencias de sobrevida entre los grupos. Se obtuvieron un tercio de cariotipos adversos y dos tercios realizó al menos tratamiento óptimo (6 ciclos de AZA o 4 de DAC). Presentaron una mediana de sobrevida desde el tiempo al diagnóstico de 18 meses, tiempo al inicio del tratamiento de 13 meses y, luego de la cesación, de 4 meses. El 55% evolucionó a LMA y el 71% falleció, la mayoría por causas relacionadas a SMD. En el análisis multivariado, los parámetros predictivos de sobrevida desde el inicio del tratamiento hasta el último contacto fueron: haber recibido un tratamiento óptimo (22 vs 6 m), haber respondido, aún con enfermedad estable, (22, 10 vs 6 m) y plaquetas $>50000/\mu\text{L}$ (18 vs 11 m)⁽³⁰⁾. Se realizó, además, un sub análisis de los pacientes de bajo riesgo al diagnóstico que recibieron AHM en su evolución (n=112). Los diagnósticos fueron realizados entre mayo-05 y agosto-16 y clasificados de acuerdo al IPSS y CPSS (LMMC). En este subgrupo, la mediana del tiempo a requerir e iniciar tratamiento fue de 6 meses, comparado con 2 meses en el subgrupo de alto riesgo. Dos tercios recibió tratamiento óptimo con una mediana de sobrevida global desde el diagnóstico de 36 meses; desde el inicio del tratamiento, de 23 meses; y luego del último ciclo o falla al AHM, de 5 meses. El 36% progresó a LMA y el 58% falleció, la mayoría por causas relacionadas con los SMD. El parámetro más importante asociado al requerimiento pronto de tratamiento fue el porcentaje de blastos ($>4\%$) (15 vs 5 meses). Se realizó un análisis multivariado para evaluar las variables indepen-

dientes para predecir sobrevida desde el diagnóstico hasta el último contacto, confirmando el pronóstico adverso del género masculino, un corto tiempo a requerir tratamiento, menores niveles de hemoglobina, presencia de blastos medulares y no alcanzar un tratamiento óptimo, agregándose un recuento de plaquetas $<50000/\mu\text{L}$ al considerar las variables desde el inicio del tratamiento. El parámetro más importante predictor de sobrevida fue haber recibido un tratamiento óptimo y, mejor aún, más de 9 ciclos⁽³¹⁾.

Destacando la importancia del número de ciclos recibidos, el objetivo fue evaluar en la cohorte completa (n=221) los factores clínicos que influyeron en el hecho de no lograr alcanzar un tratamiento óptimo. El 38% no alcanzó a recibir tratamiento óptimo asociado a una sobrevida más corta (13 vs 37 meses). Los principales parámetros asociados a un tratamiento sub-óptimo, confirmados por regresión logística, fueron el ECOG ≥ 1 , el recuento plaquetario $< 50000/\mu\text{L}$ al inicio del tratamiento y la falta de respuesta. Al evaluar parámetros que se asocian a peor sobrevida en tratamiento sub-óptimo, el análisis multivariado confirmó que los niveles de hemoglobina $< 10 \text{ g/dL}$, menor tiempo para requerir tratamiento y cariotipos intermedios/pobres son predictores independientemente ajustando por riesgo y evolución a LMA⁽²⁹⁾.

A partir de esta primera aproximación, se redoblaron los esfuerzos para conocer más en profundidad nuestra población de SMD bajo tratamiento hipometilante. Se incrementó la serie a 340 y se sumó la colaboración de Venezuela, República Dominicana, Ecuador y México.

Se realizó un primer subanálisis, en el cual se evaluaron los factores clínicos predictivos de sobrevida y de falta de respuesta de una cohorte de pacientes añosos ≥ 65 años de alto riesgo (IPSS-R $>3,5$ o CPSS ≥ 1) bajo tratamiento hipometilante. Los 138 pacientes seleccionados mostraron una mediana de seguimiento de 12,4 meses y una mediana de ciclos de 7. La mediana de edad fue 75 años con un predominio masculino, 34% índice de Charlson ≥ 3 , 23% PS ≥ 2 y 66% presentaban dependencia transfusional antes del tratamiento.

En este subgrupo de pacientes el principal parámetro adverso que fue relevante para predecir sobrevida fue el cariotipo de alto riesgo. Al considerar la evolución sólo hasta la realización de otro tratamiento posterior, se sumaron la dependencia transfusional

previa y los blastos en sangre periférica. La tasa de respuesta global en este subgrupo de pacientes añosos (n=119) fue 61% (RC/RCm/RP: 34%, MH: 15%, EE: 12%). El conjunto de no respondedores, y a pesar de que el 47% recibió un tratamiento óptimo, presentaron una mediana de sobrevida global de 7,6 meses comparado con los respondedores con una mediana de 25,9 meses. La falta de respuesta se asoció a PS $\geq$ 2, recuento de plaquetas <30000/ μ L y presencia de blastos en sangre periférica, ajustado por nivel de hemoglobina e índice de Charlson⁽³²⁾.

Se realizó posteriormente un segundo subanálisis para evaluar el impacto de la trombocitopenia severa (<30000/ μ L) en la sobrevida y respuesta al tratamiento con AHM, seleccionando 215 pacientes con SMD (excluyendo LMMC, SMD secundarias y LMA). Dentro de las características de la población, se destacó un predominio de pacientes de sexo masculino con una edad mediana de 71 años. Al inicio del tratamiento con AHM, el 79% presentó hemoglobina menor a 10 g/dL, 32,7% recuento plaquetario menor a 30000/ μ L, 14,7% cariotipo adverso y 67,4% una clasificación de riesgo según IPSS-R>3,5. Entre el grupo de pacientes de bajo riesgo al diagnóstico, el 75,7% mostraba resistencia a eritropoyetina y el 8,6% dependencia transfusional. Los parámetros que mantuvieron su independencia para predecir menor sobrevida hasta el último contacto fueron: sexo masculino, citogenético adverso, anemia según los puntos de corte recomendados por el IPSS-R, trombocitopenia <30000/ μ L y edad mayor a 60 años. Todos estos parámetros conservaron su independencia tras evaluar hasta cambio de tratamiento (quimioterapia, otro AHM o trasplante de precursores hematopoyéticos). La tasa de respuesta global (n=176) fue del 67% (RC/RCm/RP: 30,7%, MH: 20,4%, EE: 15,7%). La mediana de sobrevida en respondedores fue de 30,0 meses comparada con 7,9 meses en los que no obtuvieron respuesta. Se evaluó un modelo de regresión logística basado en los parámetros independientes de riesgo para predecir sobrevida. La falla al tratamiento se asoció a menor nivel de hemoglobina y a trombocitopenia severa <30000/ μ L. Además, la trombocitopenia severa se comportó como un factor pronóstico adverso en la sobrevida de los pacientes respondedores (15,1 m vs 39,0 m)⁽³³⁾.

Novedades en el tratamiento de SMD de alto riesgo

1. Segunda generación de AHM

Frente a la necesidad de mejorar la tasa de respuesta, la duración de la misma y la sobrevida con los AHM, muchas drogas se encuentran en desarrollo. La guadecitibina es un hipometilante de segunda generación, que presenta mayor vida media que la DAC y por ello, mayor tiempo de exposición a la droga. Se realizó un ensayo clínico fase I/ II donde se observaron respuestas entre 43 y 51%(34). En otro ensayo clínico fase II, se incluyeron pacientes con LMMC y SMD de alto riesgo sin tratamiento previo, observándose una tasa de respuesta de 65% con un 26% de remisiones completas⁽³⁵⁾. Aún se encuentra en curso un estudio fase III en SMD luego de la falla a AHM comparándolo con bajas dosis de citarabina/quimioterapia o soporte (NCT02907359). La azacitidina oral CC-486, una nueva formulación de la AZA, actualmente se encuentra en estudio en fase III para mantenimiento en LMA, y para pacientes de bajo riesgo⁽³⁶⁾. También se ha planteado como mantenimiento post TACPH⁽³⁷⁾ y en refractarios a hipometilantes (NCT02281084).

La decitabina oral ASTX727 combina un inhibidor de la citidina deaminasa (cedazurine) con DAC, con la intención de prolongar su estabilidad⁽³⁸⁾. Actualmente se está realizando un estudio fase III comparándola en ciclos cruzados con DAC endovenosa para evaluar biodisponibilidad y actividad clínica (NCT03306264).

2. Terapias blanco moleculares

- Inhibidores de IDH1/ IDH2. Las mutaciones de *IDH* se encuentran en un 10-15% de los pacientes. Un inhibidor de IDH2 mutada, enasidenib, ha sido aprobado recientemente por la agencia *Food and Drug Administration* (FDA) para LMA recaída. En SMD, ha mostrado tasas de respuesta global de 40 - 50%(38). Esta droga se encuentra en evaluación para primera línea en alto riesgo en combinación con AZA (NCT03383575). Por otra parte, un inhibidor de IDH1 mutada, ivosidenib, presentó una tasa de respuesta global de 92% en 12 pacientes con SMD, con independencia transfusional, remisiones duraderas y remisiones moleculares en ciertos pacientes⁽³⁹⁾.

- Inhibidores de la histona deacetilasa (HDACi). Actuarían modulando la expresión aberrante de genes, que podría ser sinérgico con los AHM. A pesar de ello, en fases tempranas, el pracinostat no demostró

resultados alentadores⁽⁴⁰⁾. En un estudio fase Ib/Ib, panobinostat en combinación con AZA mostró mejores resultados en relación a la respuesta comparado con AZA, sin diferencias en sobrevida o tiempo a la progresión⁽⁴¹⁾. Además, se está evaluando su rol en el post TACPH⁽⁴²⁾.

- **Inhibidores de BCL2.** Venetoclax demostró actividad apoptótica *in vitro* en células progenitoras de SMD de alto riesgo⁽⁴³⁾. En un ensayo clínico fase Ib, ha demostrado previamente resultados favorables en pacientes añosos con LMA (RC 61%)⁽⁴⁴⁾. Actualmente, se encuentran en curso dos estudios de fase II, en combinación con DAC o AZA en pacientes con SMD que fallaron a AHM (NCT03404193 / NCT02966782).

- **Inhibidores multikinasa.** Rigosertib es una molécula mimética de la vía del RAS que bloquea vías de señalización celular involucradas en SMD de alto riesgo. Esta droga, administrada de forma parenteral, se encuentra en estudio en subtipos más agresivos de SMD que fallaron a HMA⁽⁴⁵⁾. Su presentación oral se evaluó en un estudio fase I/II en 13 pacientes con SMD de alto riesgo que no recibieron AHM previamente y en 16 que fallaron previamente. Éstos presentaron una tasa de respuesta global de 92% y de 50%, respectivamente⁽⁴⁶⁾.

3. Inmunomoduladores

Las moléculas PD-1/PD-1L y CTLA-4 modulan la activación de las células T y la actividad de vigilancia inmunológica antitumoral en tumores sólidos y hemopatías malignas. PD-1 y CTLA-4 se encuentran sobreexpresadas en SMD, principalmente en la resistencia a AHM⁽⁴⁷⁾. Se encuentran actualmente en curso ensayos clínicos para evaluar la combinación entre AHM y anticuerpos inhibidores de puntos de control inmunitarios como nivolumab, durvalumab o atezolizumab (NCT02397720 / NCT02775903 / NCT02508870). Se presentaron los resultados de un estudio fase I/ II de nivolumab o ipilimumab combinados con AZA en SMD con o sin tratamiento previo, mostrando respuestas globales de 70 y 62%, respectivamente. Con ipilimumab monodroga se obtuvieron 30% en pacientes que habían recibido AHM previamente, con compromiso del perfil de seguridad⁽³⁵⁾.

4. TP53 como blanco de nuevas drogas

APR-246 produce apoptosis en células tumorales

mediante la restauración de la función transactivadora de TP53 mutante. Una pequeña serie fase Ib/II de la combinación con AZA mostró respuesta en el 100% de 5 pacientes, sumado a un perfil de seguridad adecuado^(48,49).

5. Nuevas formulaciones de quimioterapia

CPX-351 (Vyxeos™) es una formulación liposomal de citarabina y daunomicina, aprobada por la FDA para LMA secundaria y LMA con cambios asociados a SMD. Es una opción prometedora para pacientes con SMD de alto riesgo que progresan a LMA, que son elegibles para tratamiento intensivo, incluyendo TACPH. En un estudio de fase III, se incluyeron pacientes con LMA secundaria y SMD de alto riesgo que fallaron a AHM. La rama CPX-351, en comparación con el esquema 7+3, presentó beneficios en sobrevida global, sobrevida libre de eventos y mortalidad⁽⁵⁰⁾.

Conclusión

Los pacientes con SMD de alto riesgo constituyen un desafío terapéutico. Su abordaje no ha sufrido mayores cambios en la última década y, con las estrategias actuales, aún hay muchos pacientes que no responden al tratamiento, recaen tempranamente o progresan a LMA.

Debido a la heterogeneidad de los SMD, se requiere mejorar la individualización de la evolución de cada paciente e identificar marcadores de respuesta a fin de identificar a los candidatos para las nuevas tecnologías sanitarias.

Sumando los esfuerzos de Latinoamérica, el mayor conocimiento de nuestra población favorecerá la implementación de mejoras en el diagnóstico y tratamiento de esta patología. Dentro de la complejidad de esta enfermedad, el desarrollo de nuevas drogas intentará mejorar el pronóstico de nuestros pacientes.

Agradecimientos: a la Subcomisión de SMD y al GLAM por el apoyo con los datos aportados y a la Dra. Carolina Belli por sus aportes en la elaboración del manuscrito.

Conflictos de interés: El autor declara no poseer conflictos de interés

Bibliografía

1. Hasserjian RP, Orazi A, Brunning RD y col. Myelodysplastic Syndromes: Overview. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues Swerdlow SH, Campo E, Harris NL y col, 2017, p98-120 2017 Revised 4th Edition, IARC, Lyon.
2. Greenberg P, Cox C, LeBeau MM y col. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 1997 Mar 15;89(6):2079-88.
3. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J y col. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2012 Sep 20;120(12):2454-65.
4. Pfeilstöcker M, Tuechler H, Sanz G y col. Time-dependent changes in mortality and transformation risk in MDS. *Blood*. 2016 Aug 18;128(7):902-10.
5. Nazha A, Narkhede M, Radivoyevitch T y col. Incorporation of molecular data into the Revised International Prognostic Scoring System in treated patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2016 Nov;30(11):2214-2220.
6. Tefferi A, Gangat N, Mudireddy M y col. Mayo Alliance Prognostic Model for Myelodysplastic Syndromes: Integration of Genetic and Clinical Information. *Mayo Clin Proc*. 2018 93:1363-74.
7. Platzbecker U. Treatment of MDS. *Blood*. 2019 Mar 7;133(10):1096-1107.
8. de Witte T, Hagemeijer A, Suciu S y col. Value of allogeneic versus autologous stem cell transplantation and chemotherapy in patients with myelodysplastic syndromes and secondary acute myeloid leukemia. Final results of a prospective randomized European Inter-group Trial. *Haematologica*. 2010 Oct;95(10):1754-61.
9. Gagelmann N, Eikema DJ, Stelljes M y col. Optimized EBMT transplant-specific risk score in myelodysplastic syndromes after allogeneic stem-cell transplantation. *Haematologica*. 2019; 104(5):929-936.
10. Della Porta MG, Alessandrino EP, Bacigalupo A y col. Predictive factors for the outcome of allogeneic transplantation in patients with MDS stratified according to the revised IPSS-R. *Blood*. 2014;123(15): 2333-2342.
11. Shaffer BC, Ahn KW, Hu ZH y col. Scoring system prognostic of outcome in patients undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation for myelodysplastic syndrome. *J Clin Oncol*. 2016;34(16):1864-1871.
12. Kröger N, Iacobelli S, Franke GN y col. Dose-Reduced Versus Standard Conditioning Followed by Allogeneic Stem-Cell Transplantation for Patients With Myelodysplastic Syndrome: A Prospective Randomized Phase III Study of the EBMT (RICMAC Trial) *J Clin Oncol*. 2017 35:2157-2164.
13. Scott BL, Pasquini MC, Logan BR y col. Myeloablative versus Reduced-Intensity Hematopoietic Cell Transplantation for Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes. *J Clin Oncol*. 2017 35:1154-61.
14. Steensma D. Myelodysplastic syndromes current treatment algorithm. *Blood Cancer Journal*. 2018 8:47.
15. De Witte T, Bowen D, Robin M y col. Should Patients With High-Risk or Transformed Myelodysplastic Syndrome Proceed Directly to Allogeneic Transplant Without Prior Cyto-reduction by Remission-Induction Chemotherapy or Hypomethylating Agent Therapy? *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2014 Sep;14 Suppl:S42-5.
16. De Witte T, Bowen D, Robin M y col. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for MDS and CMML: recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2017 129:1753-62.
17. Festuccia M, Baker K, Gooley TA y col. Hematopoietic Cell Transplantation in Myelodysplastic Syndromes after Treatment with Hypomethylating Agents. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2017 23:1509-14.
18. Voso MT, Leone G, Piciocchi A y col. Feasibility of Allogeneic Stem Cell Transplantation after Azacitidine Bridge in Higher-Risk Myelodysplastic Syndromes and Low Blast Count Acute Myeloid Leukemia: Results of the BMT-AZA Prospective Study. *Ann Oncol*. 2017 Jul 1;28(7):1547-1553.
19. Park SW, Baek DW, Sohn SK y col. Favorable Outcomes With Tumor Burden Reduction Following Administration of Hypomethylating Agents Before Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation in Patients With Higher Risk Myelodysplastic Syndrome. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2019 S2152-2650(18)31618-5.
20. Lee YJ, Park SW, Lee IH y col. Report on outcomes of hypomethylating therapy for analyzing prognostic value of Revised International Prognostic Scoring System for patients with lower-risk myelodysplastic syndromes. *Ann Hematol*. 2016 Oct;95(11):1795-804.
21. Fazio C, Covre A, Cutaia O y col. Immunomodulatory Properties of DNA Hypomethylating Agents: Selec-

- ting the Optimal Epigenetic Partner for Cancer Immunotherapy. *Front Pharmacol*. 2018 Dec 7;9:1443.
22. Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E y col. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncol*. 2009 10:223-32.
23. Silverman LR, Fenaux P, Mufti GJ y col. Continued azacitidine therapy beyond time of first response improves quality of response in patients with higher-risk myelodysplastic syndromes. *Cancer*. 2011 117:2697-2702.
24. Kantarjian H, Issa JP, Rosenfeld CS y col. Decitabine improves patient outcomes in myelodysplastic syndromes: results of a phase III randomized study. *Cancer*. 2006 106:1794-803.
25. Steensma DP, Baer MR, Slack JL y col. Multicenter study of decitabine administered daily for 5 days every 4 weeks to adults with myelodysplastic syndromes: the alternative dosing for outpatient treatment (ADOPT) trial. *J Clin Oncol*. 2009 Aug 10;27(23):3842-8.
26. Xie M, Jiang Q, Xie Y. Comparison between Decitabine and Azacitidine for the Treatment of Myelodysplastic Syndrome: A Meta-analysis with 1,392 Subjects. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2015 Jan;15(1):22-8.
27. Itzykson R, Thépot S, Quesnel B y col. Prognostic factors for response and overall survival in 282 patients with higher-risk myelodysplastic syndromes treated with azacitidine. *Blood*. 2011 117:403-11.
28. Nazha A, Komrokji R, Garcia-Manero G y col. The efficacy of current prognostic models in predicting outcome of patients with myelodysplastic syndromes at the time of hypomethylating agent failure. *Haematologica*. 2016; 101:e224.
29. Iastrebner M, Nucifora E, Penchasky D y col. Clinical-risk factors that influence an optimal hypomethylating agents treatment in myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukemia. Poster at 14th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes. Valencia. 3-6 Mayo 2017.
30. Belli C, Lazzarino C, Arbelbide J y col. High risk patients under hypomethylating agents- A multicentric experience from Latin America. Poster at 14th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes. Valencia. 3-6 Mayo 2017.
31. Iastrebner M, Belli C, Lazzarino C y col. Lower risk patients that required hypomethylating agents, A multicentric experience from Latin-America. Poster at 14th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes. Valencia. 3-6 Mayo 2017.
32. Iastrebner M, C. Lazzarino C, Grillé S y col. Predictive factors of overall survival and treatment response in high-risk older patients with MDS and CMML under Hypomethylating Agents. Latin-American MDS Group - GLAM HemaSphere, 2018;2:S1 abstract PS1256.
33. Lazzarino C, Iastrebner M, Gonzalez J y col. Severe thrombocytopenia as a predictor of survival and response to Hypomethylating Agents: data from a Latin-American cohort. HemaSphere, 2018;2:S1 Abstract PS1259.
34. Garcia-Manero G, Roboz G, Walsh K y col. Guadecitabine (SGI-110) in patients with intermediate or high-risk myelodysplastic syndromes: phase 2 results from a multicentre, open-label, randomised, phase 1/2 trial. *Lancet Haematol*. 2019 Jun;6(6):e317-e327.
35. Garcia-Manero G. Highlights in Myelodysplastic Syndromes From the 60th American Society of Hematology Annual Meeting: Commentary. *Clinical Advances in Hematology & Oncology*. 2019 17(2):5.
36. Garcia-Manero G, Almeida A, Giagounidis A y col. Design and rationale of the QUAZAR Lower-Risk MDS (AZA-MDS-003) trial: a randomized phase 3 study of CC-486 (oral azacitidine) plus best supportive care vs placebo plus best supportive care in patients with IPSS lower-risk myelodysplastic syndromes and poor prognosis due to red blood cell transfusion-dependent anemia and thrombocytopenia. *BMC Hematology*. (2016) 16:12.
37. de Lima M, Oran B, Champlin RE y col. CC-486 Maintenance After Stem Cell Transplantation in Patients with Acute Myeloid Leukemia or Myelodysplastic Syndromes. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2018 Oct;24(10):2017-2024.
38. Santini V. How I treat MDS after hypomethylating agent failure. *Blood*. 2019;133(6):521-529.
39. DiNardo CD, Stein EM, de Botton S y col. Durable Remissions with Ivosidenib in IDH1-Mutated Relapsed or Refractory AML. *N Engl J Med*. 2018 378:2386-98.
40. Garcia-Manero G, Montalban-Bravo G, Berdeja JG y col. Phase 2, randomized, double-blind study of pracinostat in combination with azacitidine in patients with untreated, higher-risk myelodysplastic syndromes. *Cancer*. 2017 123:994-1002.
41. Garcia-Manero G, Sekeres MA, Egyed M y col. A phase 1b/2b multicenter study of oral panobinostat

- plus azacitidine in adults with MDS, CMML or AML with $\leq 30\%$ blasts. *Leukemia*. 2017, 31, 2799–2806.
42. Bug G, Burchert A, Wagner EM y col. Phase I/II study of the deacetylase inhibitor panobinostat after allogeneic stem cell transplantation in patients with high-risk MDS or AML (PANOBEST trial). *Leukemia*. 2017, 31, 2523-2525.
 43. Jilg S, Reidel V, Müller-Thomas C y col. Blockade of BCL-2 proteins efficiently induces apoptosis in progenitor cells of high-risk myelodysplastic syndromes patients. *Leukemia*. 2016;30(1):112-123.
 44. DiNardo CD, Pratz KW, Letai A. Safety and preliminary efficacy of venetoclax with decitabine or azacitidine in elderly patients with previously untreated acute myeloid leukaemia: a non-randomised, open-label, phase 1b study. *Lancet Oncol*. 2018 Feb;19(2):216-228.
 45. Garcia-Manero G, Fenaux P, Al-Kali A y col. Rigosertib versus best supportive care for patients with high-risk myelodysplastic syndromes after failure of hypomethylating drugs (ONTIME): a randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2016 Apr;17(4):496-508.
 46. Navada S, Garcia-Manero G, Atallah E y col. Phase 2 expansion study of oral rigosertib combined with azacitidine (AZA) in patients (pts) with higher-risk (HR) myelodysplastic syndromes (MDS): efficacy and safety results in HMA treatment naive & relapsed (rel)/refractory (ref) patients [ASH abstract 230]. *Blood*. 2018;132(suppl 1).
 47. Yang H, Bueso-Ramos C, DiNardo C y col. Expression of PD-L1, PD-L2, PD-1 and CTLA4 in myelodysplastic syndromes is enhanced by treatment with hypomethylating agents. *Leukemia*. 2014 28:1280-8.
 48. Sallman D, Dezern A, Sweet K y col. Phase 1b/2 combination study of APR-246 and Azacitidine (AZA) in patients with TP53 mutant Myelodysplastic Syndromes (MDS) and Acute Myeloid Leukemia (AML) HemaSphere, 2018;2: S1 Abstract S1558.
 49. Enrico A, Gonzalez J, Bestach Y y col. Influence of Acute Myeloid Leukemia Progression on the Prognosis of Patients with Myelodysplastic Syndromes. Acute Myeloid Leukaemia (AML): Symptoms, Diagnosis and Treatment. Irvin Mendez. Nova. 2018.
 50. Talati C, Lancet JE. CPX-351: changing the landscape of treatment for patients with secondary acute myeloid leukemia. *Future Oncol*. 2018 14:1147-54.



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.

Influencia de la progresión leucémica en el pronóstico de los pacientes con síndromes mielodisplásicos y experiencia nacional en leucemias mieloides agudas secundarias.

Influence of acute myeloid leukemia progression on the prognosis of patients with myelodysplastic syndromes and national experience in secondary acute myeloid leukemias

Belli CB¹, Dick H², Giménez Conca AD³

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

² Servicio de Hematología, Hospital Italiano de La Plata, Buenos Aires, Argentina

³ Servicio de Hematología, Hospital Italiano de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

cbelli@hematologia.anm.edu.ar
hernandick_29@yahoo.com.ar
alberto.gimenez@hospitalitaliano.org.ar



MODELOS
DE PROYECTOS
COOPERATIVOS:
EXPERIENCIA EN
SMD Y LEUCEMIAS
AGUDAS

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 161-170
Octubre 2019

Palabras claves: síndromes mielodisplásicos, progresión leucémica, leucemia mieloide aguda primaria, leucemia mieloide aguda secundaria.

Keywords: myelodysplastic syndromes, leukemic evolution, primary acute myeloid leukemia, secondary acute myeloid leukemia.

Introduction

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) comprenden un grupo heterogéneo de patologías caracterizados por una evolución clínica variable desde un curso indolente hasta un desarrollo fatal de pocos meses^(1,2). La incidencia varía desde 3- 5 cada 100.000 individuos/año con un incremento asociado a la edad de 0,5 a 4,0/ 1.000.000 en individuos pediátricos⁽³⁾ hasta 20 cada 100.000 en individuos mayores de 70 años^(1,4,5). Otras publicaciones han estimado una incidencia de 103 cada 100.000 individuos de 65 años o mayores, cuyos datos los posicionarían entre las 10 neoplasias más frecuentes en adultos mayores⁽⁶⁾. La mayoría de los pacientes fallecen por causas directamente relacionadas a su falla medular y, aproximadamente, un cuarto evolucionan a leucemia mieloide aguda (LMA), denomi-

nada secundaria (LMAs)⁽⁷⁻⁹⁾.

La LMA es la leucemia más frecuente entre los adultos. En EEUU, entre 2011 y 2015, el número de casos nuevos fue de 4,3 por 100.000 personas/año con 2.8 cada 100.000 personas/año⁽¹⁰⁾. La mediana de edad al diagnóstico es 67 años, un 54% de los pacientes son mayores a 64 años y, aproximadamente, una tercera parte mayores de 75 años⁽¹¹⁾.

En este bloque se mostrará la experiencia nacional en trabajos colaborativos entre las subcomisiones de Síndrome Mielodisplásico (SMD) y Leucemias Agudas (LA) de la Sociedad Argentina de Hematología (SAH).

Síndromes mielodisplásicos y riesgo de evolución a leucemia mieloide aguda

La progresión se asocia con la adquisición suce-

siva de daños en el genoma y epigenoma. lo cual impacta en una hematopoyesis cada vez más ineficaz, afectación de las funciones celulares, profundización de las citopenias periféricas y complicaciones como sangrados o infecciones recurrentes. Cuando esta evolución se desenlaza, se asocia a sobrevida muy corta y refractariedad a los tratamientos convencionales^(1,12,13).

Hasta nuestro conocimiento, escasos trabajos se han focalizado en pacientes que progresan a LMA. Shukron y col. abordaron el concepto del riesgo de evolución y su estabilidad en relación al tiempo⁽¹⁴⁾, mientras que Okuyama y col. evaluaron, en una serie retrospectiva, factores relacionados a tratamiento de sostén versus terapias modificadoras de la enfermedad^(14,15). Por lo tanto, se planteó corroborar los factores que influyen en la progresión y determinar el impacto de la misma en la sobrevida de nuestros pacientes.

El primer abordaje retrospectivo incluyó 831 pacientes⁽¹⁶⁾, el cual se incrementó, posteriormente, a 901 (510 pertenecientes al Registro de SMD de la Sociedad Argentina de Hematología-SAH y los restantes, a un registro previo del laboratorio de Genética de la Academia Nacional de Medicina). Se consideraron pacientes con SMD *de novo* y con el subtipo displásico de leucemia mielomonocítica crónica (LMMC-MDS), de los cuales, 169 (19%) progresaron a LMA y, solamente, 13% (22/169) se encontraban vivos al cerrar el relevamiento de los datos.

La mayoría de los parámetros y sistema de predicción analizados mostraron reproducibilidad en predecir tanto la sobrevida global como la progresión a LMA, en concordancia con estudios previos^(7,17-21). Particularmente, en la figura 1 se muestra el análisis individual de las variables en relación a la progresión leucémica. La profundidad de las citopenias arroja HR mayores a 2, sin embargo, la presencia de blastos mayores a 5% y cariotipos de peor pronóstico, HR mayores a 4,0 (Figura 1A). Asimismo, en la figura 1b se observa que, al analizar cada grupo de riesgo según los sistemas vigentes, el riesgo se incrementa gradualmente con diferencias mínimas entre los grupos de peor pronóstico.

La edad es un factor importante de peor pronóstico para sobrevida. Aunque el IPSS-R recomienda la utilización de una fórmula para ajustar este parámetro⁽⁷⁾, la mayoría de los sistemas no la con-

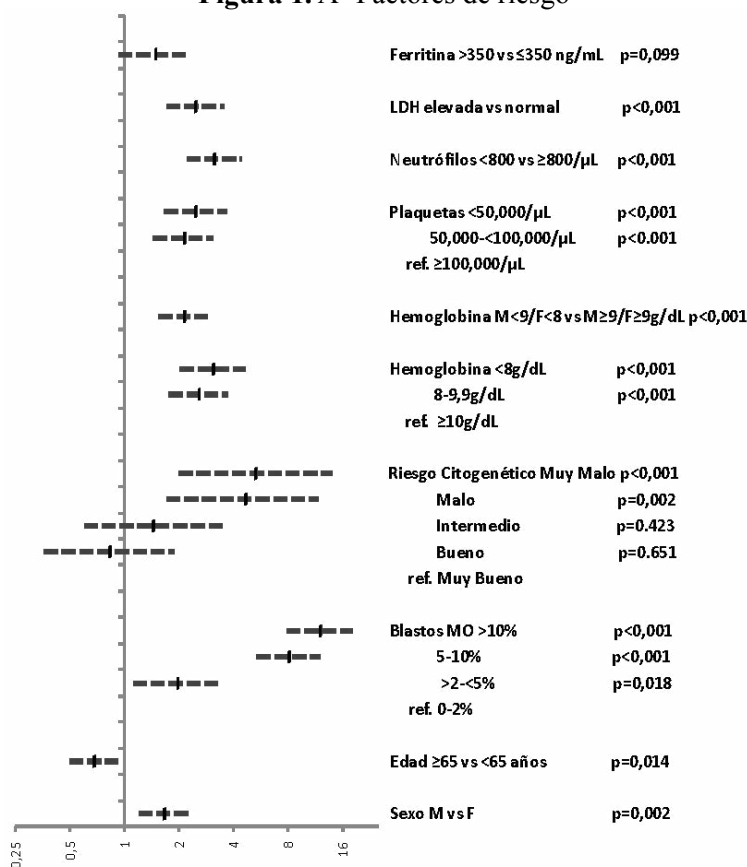
sideran, ya que podría subestimar la severidad de la patología en pacientes jóvenes^(7,12). El análisis de los eventos de muerte/ progresión según la edad muestra que la progresión disminuye con la edad de 63% en los pacientes con edad menor a 60 años a 33% en pacientes mayores a 80 años ($p < 0,001$). Y, como se observa en el análisis de correspondencia, las causas de muerte asociadas a progresión a LMA se encuentran asociadas a pacientes con menor edad al diagnóstico (Figura 2), lo cual explicaría el efecto protector de la edad avanzada graficado en la figura 1a. La mortalidad no estaría definida sólo por el desorden hematológico per se, sino por las comorbilidades existentes o los desórdenes propios de la edad, impactando significativamente en las causas de muerte y en la sobrevida global, sobre todo, en pacientes de bajo riesgo^(8,22). Esta observación podría indicar que el riesgo disminuye con la edad o que esta merma podría referirse a una menor tolerancia a las complicaciones relacionadas con las citopenias o una tendencia de los pacientes añosos a sucumbir frente a otras complicaciones relacionadas con la edad previo a la evolución a LMA.

Influencia de la progresión leucémica en el pronóstico

El pronóstico de los pacientes que evolucionaron a LMA de nuestra serie fue muy malo: el 50% progresó en 9,9 meses (IC95% 8,3-11,5) y falleció en 18,0 meses (IC95% 15,6-21,4) con una mediana de SG luego de la evolución de 3,4 meses (IC95% 2,8-4,0). Como se observa en la figura 1, la mayoría de los factores y sistemas de predicción fueron útiles para diferenciar el riesgo de progresión a LMA. Sin embargo, a excepción de los hallazgos citogenéticos, ninguno de estos parámetros evaluados al momento del diagnóstico fue útil para predecir sobrevida una vez establecida la progresión. Los pacientes con cariotipos muy malos mostraron una mediana de sobrevida de 2 meses (vs muy bueno/bueno, $p = 0,004$, y vs. intermedio: $p = 0,029$), lo cual podría reflejar la agresividad del clon maligno involucrado.

Al evaluar el impacto de cada variable en cada subpoblación, la mayoría de los factores y sistemas de predicción fueron útiles para predecir sobrevida en aquellos pacientes que no progresaron. Sin embargo, la mitad de las variables no fueron útiles (sexo, recuento de plaquetas y el WPSS-Hb) o sólo indicaron una tendencia (LDH y % de blastos en MO)

Figura 1. A- Factores de riesgo



B- Sistemas de predicción en relación a la progresión a leucemia mieloide aguda. Los *hazzard ratios* (HR) y sus respectivos intervalos de confianza 95% (CI95%) para cada variable se muestran en escala logarítmica (Regresión según Cox, método de entrada). Ref.: referencia

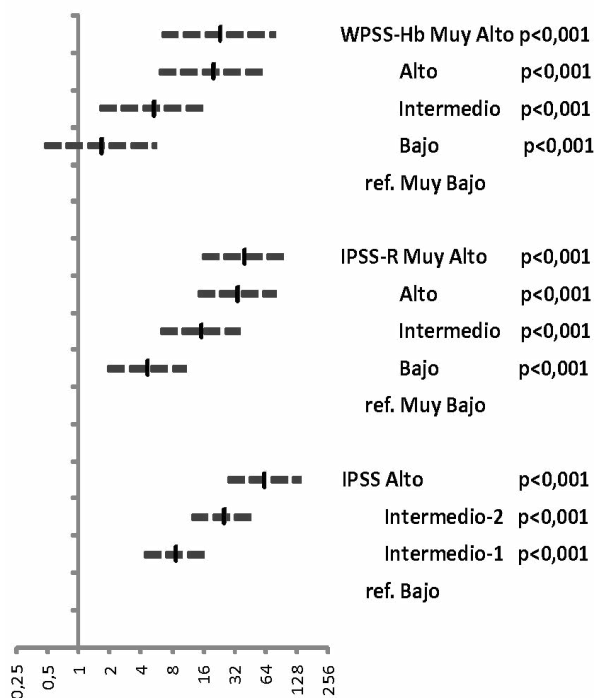
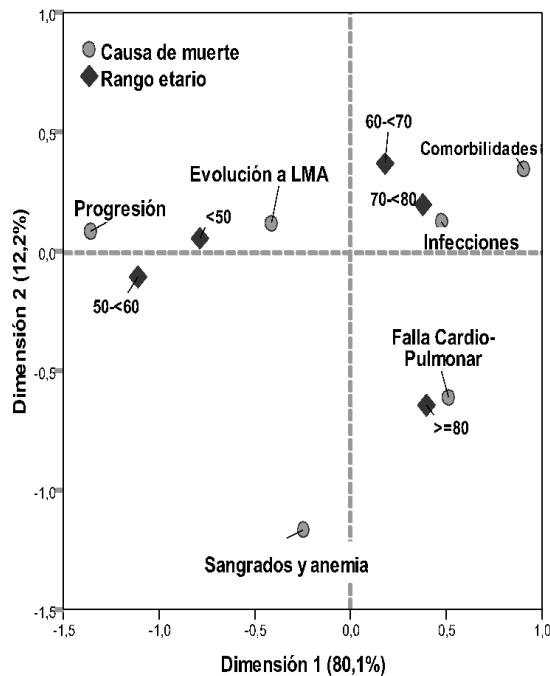


Figura 2. Análisis de correspondencia: distribución de los eventos de muerte con respecto a los diferentes rangos etarios. Dimensión 1 (abscisa) contribuye al 80% de la diferencia, mientras que, la ordenada explica el 12,2%.



en la subpoblación que progresó. Posteriormente, se comparó cada punto de corte o grupo de riesgo entre aquéllos que evolucionaron o no, y, en la mayoría de los parámetros, aquellos pacientes que progresaron mostraron una sobrevida global significativamente menor. Sin embargo, la sobrevida global no se vio influenciada por la progresión a LMA en los pacientes con hallazgos citogenéticos de peor pronóstico o con recuentos de blastos en MO mayor al 10% (Figura 3). La influencia de estos parámetros se correspondió con una sobrevida similar independiente de la evolución leucémica en aquellos pacientes de alto riesgo según el IPSS, el IPSS-R y el WPSS ([IPSS intermedio-2, $p=0,964$, alto, $p=0,580$], [IPSS-R alto, $p=0,106$, muy alto, $p=0,789$] y [WPSS-Hb alto, $p=0,085$, muy alto, $p=0,754$]). En otros términos, estos hallazgos se traducirían en que los pacientes de alto riesgo poseen una sobrevida acortada por causas directamente relacionadas a su falla medular, con o sin evolución a LMA.

Leucemia mieloide secundaria en Argentina

La LMA engloba una enfermedad que puede surgir de un trastorno hematopoyético clonal previo, generalmente SMD, o una neoplasia mieloprolife-

rativa crónica (NMPc), como también por exposición previa a terapia citotóxica y/ o radioterapia⁽²³⁾, asociadas a peor pronóstico⁽²⁴⁾. Usualmente, la terminología y las características tomadas en consideración para distinguir una LMA es ambigua. Por ende, la Organización Mundial de la Salud (OMS), en su revisión de 2008⁽²⁾, definió como LMA a las LMA con cambios relacionados con mielodisplasia, incluyendo LMA post SMD/NMP, LMA con anomalía citogenética relacionadas y LMA con displasia morfológica multilineal, identificando como una subcategoría distinta las neoplasias mieloides relacionadas con tratamiento citotóxico, que se refinaron en la actualización de 2016⁽¹⁾.

Se desconoce la verdadera proporción de LMA, en parte debido a falta de registros que la evalúen y por ser un criterio de exclusión en la mayoría de los estudios clínicos. Un análisis del registro sueco entre 1997 y 2006, mostró que las LMA representaron el 26% de los diagnósticos⁽²⁵⁾. Aunque se ha asociado con una respuesta deficiente a la quimioterapia estándar, así como con una supervivencia deficiente, todavía se debate si la LMA es un factor adverso independiente. Esta entidad generalmente está asociada a factores que confieren un mal pronóstico,

como edad avanzada y cariotipos de alto riesgo⁽²⁶⁾.

Experiencia nacional en leucemias mieloide agudas primarias y secundarias. Resultados de un trabajo cooperativo

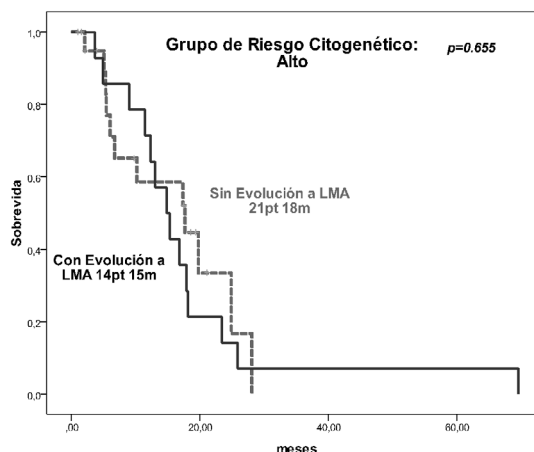
En el contexto de un trabajo cooperativo sobre leucemias mieloides agudas entre las subcomisiones de Leucemias Agudas y Síndromes Mielodisplásicos de la SAH, se realizó un estudio de cohorte retrospectivo de pacientes con LMA no promielocíticas, en mayores de 17 años, diagnosticados en 11 centros que participan en la SAH desde enero de 2013 a diciembre de 2018. Se propuso describir las características de LMAs, evaluar las diferentes variables pronósticas en esa población y realizar análisis comparativos con la LMA primaria (LMAp) en cuanto a su tratamiento de primera línea.

Fueron incluidos 587 pacientes con LMA (no promielocíticas), de los cuales 257 (43,8%) fueron clasificados como secundarios. En la tabla 1 se describen las características generales de la población de estudio.

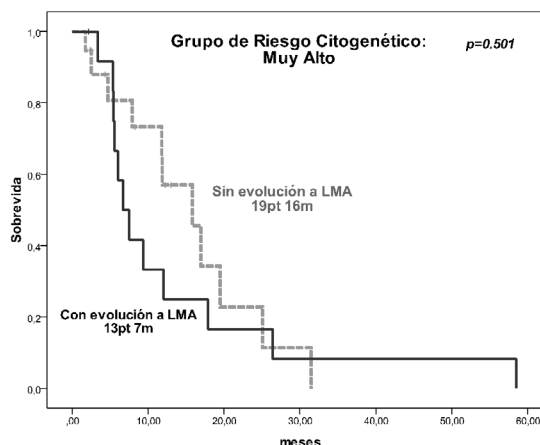
De los pacientes considerados con LMAs, 186 (72,4%) fueron interpretados como secundarios a mielodisplasia, 44 (17,1%) asociados a tratamientos citotóxicos y otros 27 (10,5%) relacionados a progresión de neoplasias mieloproliferativas (NMP). Si bien la presencia de LMA secundaria impresiona ser mayor que la reportada por el registro sueco, cabe recalcar que, para caracterizar LMA secundaria a mielodisplasia, se tomaron los criterios de la clasificación de OMS 2016. Para esto se requiere historia de síndrome mielodisplásico o mielodisplásico/mieloproliferativo, anormalidad citogenética relacionada al SMD, o displasia multilineal (displasia en mayor o igual al 50% de las células en al menos dos líneas hematopoyéticas). Además, se incluyeron aquellos pacientes que, a criterios del médico tratante, fueron interpretados como MDS por las citopenias previas (más de dos meses). En la tabla 2 se muestran la distribución de los pacientes con LMAs. Se evaluó la supervivencia global (SG) entre LMAs en función a variables del paciente, de la enfermedad y variables relacionadas con el tratamiento. La Me de SG para un índice de Charlson ≥ 3 fue 4,1 meses (IC95 2,5-5,8) contra 8,8 (IC95 6,3-11,3) para <3 , $p=0,001$. El PS (ECOG) ≥ 2 mostró una Me de 4,1 (2,8-5,4) meses, mientras que aquellos <2 fue 10,5 (6,8-14,2), $p<0,001$. Por último, la edad ≥ 60 años mostró una Me de 5,3 meses (3-7,7), siendo de 9,3 meses (6,9-

Figura 3. Curvas según Kaplan-Meier de los factores que no afectan la supervivencia global con respecto a la evolución a LMA. a: Cariotipos de mal pronóstico y b: de muy mal pronóstico, c: presencia de más de 10% de blastos en MO.

a)



b)



c)

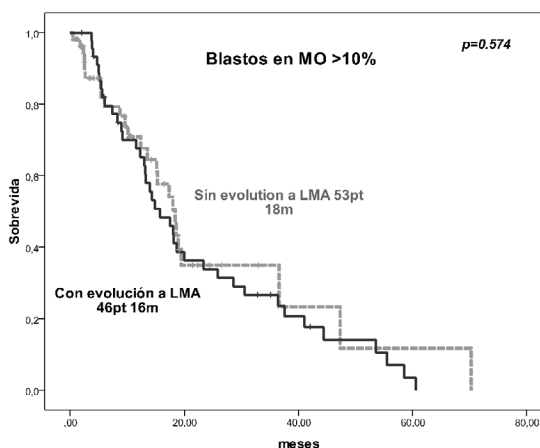


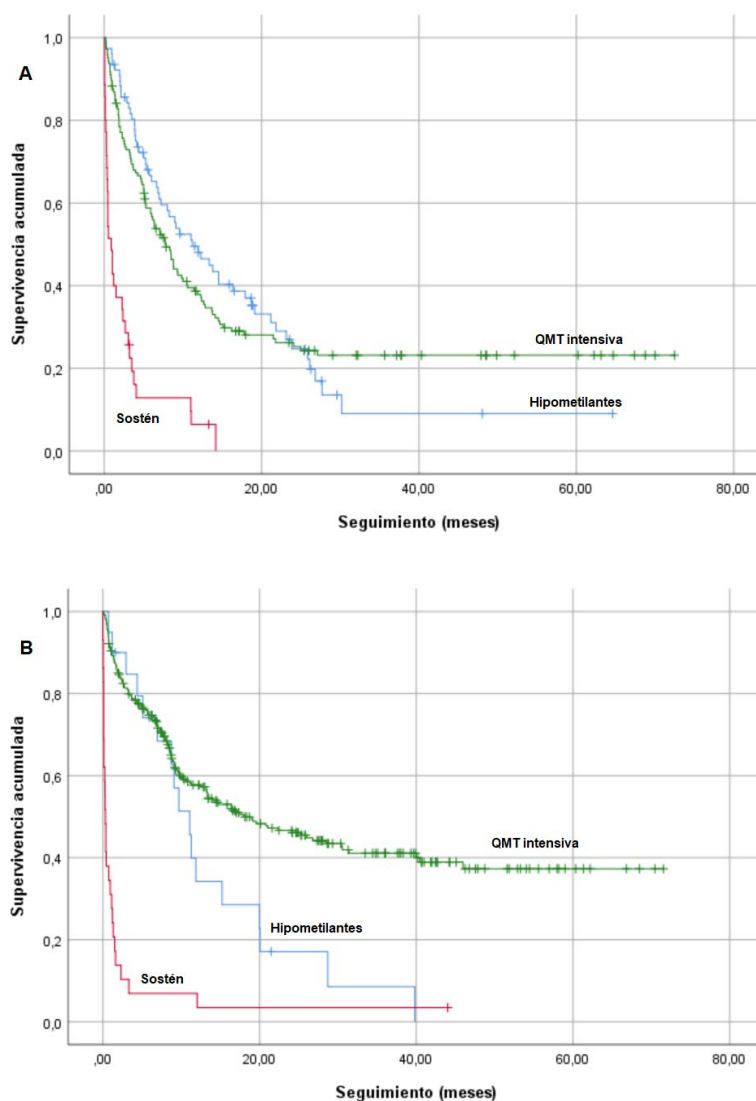
Tabla 1. Características basales de la población

Total (n= 587)	LMA primaria (n= 330)	LMA secundaria (n= 257)
Sexo femenino n (%)	151 (45,8)	118 (45,9)
Edad Me (IQR)	52,9 (37,5 - 65,1)	63 (52,9 - 72,5)
Edad >60 Me (IQR)	123 (37,4)	149 (58)
Charlson		
< 3	237 (71,8)	151 (58,8)
≥ 3	37 (11,2)	66 (25,7)
No evaluable	56 (17)	40 (15,6)
ECOG n (%)		
0	80 (24,2)	64 (24,9)
1	134 (40,6)	81 (31,5)
≥ 2	116 (35,2)	112 (43,6)
Leucocitos >100.000 n (%)	54 (16,4)	21 (8,2)
Leucocitos Me (IQR)	16124 (3500 - 61570)	5740 (2432 - 27000)
Citogenético n (%)		
Favorable	56 (16,4)	8 (3,1)
Intermedio	206 (62,4)	117 (45,5)
Desfavorable	9 (2,7)	94 (36,6)
No Evaluable	61 (18,7)	38 (14,8)
FLT3 mutado n (%)	[evaluados 233]	[evaluados 137]
Positivo	46 (19,7)	7 (5,1)
Negativo	175 (83,7)	130 (94,9)
NPM1 n (%)	[evaluados 209]	[evaluados 116]
Positivo	36 (16,3)	109 (94)
Negativo	175 (83,7)	7 (6)
t(8;21) n (%)	[evaluados 173]	[evaluados 93]
Positivo	28 (16,2)	4 (4,3)
Negativo	145 (83,8)	89 (95,7)
inv16/t(16;16) n (%)	[evaluados 176]	[evaluados 91]
Positivo	20 (11,4)	4 (4,4)
Negativo	156 (88,6)	87 (95,6)
Primera línea n (%)		
Quimioterapia	281 (85,2)	145 (56,4)
Hipometilante	20 (6,1)	77 (30)
Sostén	29 (8,8)	35 (13,6)
Trasplante n (%)	89 (27)	52 (20,2)
Seguimiento Me (IQR)	8,77 (2,6 - 24,3)	6,11 (2 - 14,9)
Muerte n (%)	189 (57,3)	193 (75,1)

Tabla 2. Distribución de pacientes con LMA secundaria

Causas	N (total 257)	%
Mielodisplasia		
• Diagnóstico previo de MDS	58	22,6
• Alteraciones citogenéticas	55	21,4
• Displasia	49	19
• Citopenias previas	24	9,3
Neoplasias mieloproliferativas	27	10,5
Tratamientos citotóxicos		
• Quimioterapia + radioterapia	11	4,3
• Quimioterapia	27	10,5
• Radioterapia	6	2,3

Figura 4. Curvas según Kaplan-Meier de supervivencia global con respecto al tratamiento de primera línea utilizado. a. En pacientes con LMA secundaria. b. En pacientes con LMA primaria.



11,7) para los pacientes menores, $p=0,02$.

El riesgo citogenético mostró una Me de SG no evaluable para el riesgo favorable ($n=8$), vs 10 meses (6-13,9) y 6,4 (3,8-8,9) para el riesgo intermedio y adverso respectivamente, $p=0,04$. El recuento leucocitario ≥ 100.000 tuvo una Me de 1,9 (0,9-3) meses, contra 8 (6-10) de los pacientes con recuento menores al diagnóstico, $p<0,001$.

Entre las variables asociadas a tratamiento, el uso de esquema intensivo (QMT) mostró una Me de SG de 7,8 meses (5,9-9,7) vs 11,2 (6,3-16) meses del tratamiento hipometilante (HM), $p<0,001$. Comparativamente, entre los pacientes con LMAp, la QMT mostró una Me de SG de 18 meses (10,6-25,3) vs 11 (8,1-14) meses del tratamiento HM, $p<0,001$. Por su parte el trasplante (TPH) tuvo una Me no alcanzada, contra los 4,8 meses (IC95 3,5-6) de quienes no accedieron, $p<0,001$. Finalmente, la Me de alcanzar remisión completa (RC) fue 17,7 meses (IC95 7,8-27,7) vs 3,3 (IC95 2,4-4,3), $p<0,001$. El 22,1% ($n=17$) de quienes realizaron tratamiento HM alcanzaron RC, mientras que el 58,6% ($n=85$) de los que realizaron QMT, $p<0,001$. Sólo el 39,7% ($n=102$) de los pacientes con LMAs alcanzan RC, mientras que el 64,5% ($n=213$) entre los pacientes con LMAp. Los resultados con los tratamientos elegidos mostraron discrepancias entre los subgrupos, a favor de los hipometilantes en LMAs. No obstante, en las curvas de Kaplan Meier de estos pacientes se puede ver una meseta a los 20 meses en la supervivencia acumulada en los pacientes que realizaron QMT en alrededor de 25% de supervivencia. Por su parte, en aquéllos que recibieron hipometilantes la meseta se observa a los 30 meses con una supervivencia de alrededor del 10%. Se realizó un análisis multivariado para evaluar qué variables de las descritas fueron determinantes en la

supervivencia de la cohorte de pacientes con LMAs estudiada. Se incluyeron las variables que resultaron significativas en el análisis univariado. Se observó que el PS ECOG ≥ 2 , el riesgo citogenético (MRC), alcanzar RC y acceder al trasplante de células hematopoyéticas (TCPH) fueron las variables significativas en el análisis ajustado por covariables (Tabla 3).

Como se puede observar, si bien el tratamiento quimioterápico convencional puede significar menor supervivencia inicial en pacientes con LMAs, el TCPH es un factor fundamental en la supervivencia de estos pacientes. Por lo cual se recomienda el estudio HLA en todos los pacientes al diagnóstico, independientemente del esquema elegido. A su vez, se recomienda la evaluación temprana de respuesta en los pacientes con tratamiento HM para evaluar eventual cambio terapéutico, en caso de que sea posible.

Las mismas variables evaluadas en cuanto a supervivencia en pacientes con LMAs resultaron significativas cuando fueron evaluadas en el subgrupo de LMAp. Finalmente, en un análisis multivariado de todos los pacientes de la cohorte, se objetivó que la caracterización de LMA secundaria fue significativa en cuanto a la SG tanto en el análisis univariado como ajustado (Tabla 4).

Agradecimientos

Los autores agradecen a los miembros de las subcomisiones de SMD y de Leucemia de la SAH por el aporte de los datos clínicos y la discusión relacionada a los resultados presentados. Si bien este estudio fue realizado sin apoyo financiero, CB recibe subsidios del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT).

Tabla 3. Modelo de análisis multivariado de riesgo de Cox en LMA Secundaria

Covariables	HR crudo	p	HR ajustado	p
Índice de Charlson	1,7 (1,2-2,3)	0,001	1,3 (0,9-2)	0,16
Citogenético (MRC)	1,6 (1,2-2,1)	0,001	1,7 (1,2-2,4)	0,002
Edad ≥ 60 años	0,6 (0,5-0,8)	0,003	1,1 (0,7-1,7)	0,64
Trasplante	4,1 (2,6-6,6)	$<0,001$	2,6 (1,4-4,8)	0,002
Respuesta completa	0,3 (0,2-0,4)	$<0,001$	0,4 (0,3-0,6)	$<0,001$
Leucocitos ≥ 100.000	3 (1,8-4,8)	$<0,001$	1,3 (0,7-2,4)	0,4
PS (ECOG) ≥ 2	1,6 (1,4-2)	$<0,001$	1,4 (1-2,1)	0,048

Tabla 4. Modelo de análisis multivariado de riesgo de Cox para todos los pacientes

Covariables	HR crudo	p	HR ajustado	p
Índice de Charlson	1,8 (1,4-2,3)	0,001	1,5 (1,1-2)	0,02
Citogenético (MRC)	1,9 (1,6-2,4)	0,001	1,6 (1,2-2,2)	0,001
Edad ≥ 60 años	2,1 (1,7-2,6)	0,001	1,3 (0,9-1,7)	0,14
Trasplante	3,6 (2,7-4,9)	0,001	2,1 (1,4-3,2)	0,001
LMA secundaria	0,6 (0,5-0,8)	0,001	1,4 (1,1-1,9)	0,04
Respuesta completa	0,2 (0,1-0,2)	0,001	0,2 (0,1-0,2)	0,001
Inducción intensiva	0,8 (0,6-0,9)	0,03	1,9 (1,3-2,7)	0,001
Leucocitos ≥ 100.000	1,7 (1,3-2,3)	0,001	1,5 (1,1-2,1)	0,02
PS (ECOG) ≥ 2	2,5 (2-3)	0,001	1,4 (1,1-1,9)	0,01

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

Bibliografía

- Arber DA et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127, 2391-2405.
- Vardiman JW et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 2009;114, 937-951.
- Passmore SJ et al. Paediatric myelodysplastic syndromes and juvenile myelomonocytic leukaemia in the UK: a population-based study of incidence and survival. *British Journal of Haematology*. 2003;121, 758-767.
- Rollison DE et al. Epidemiology of myelodysplastic syndromes and chronic myeloproliferative disorders in the United States, 2001-2004, using data from the NAACCR and SEER programs. *Blood*. 2008;112, 45-52.
- Vardiman JW et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 2009;114, 937-951.
- McQuilten ZK et al. Underestimation of myelodysplastic syndrome incidence by cancer registries: Results from a population-based data linkage study. *Cancer*. 2014;120, 1686-1694.
- Greenberg PL et al. Revised International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes. *Blood*. 2012;120, 2454-2465.
- Dayyani F et al. Cause of death in patients with low-risk myelodysplastic syndrome. *Cancer NA-NA* (2010). doi:10.1002/cncr.24984
- Steensma DP. Graphical representation of clinical outcomes for patients with myelodysplastic syndromes. *Leuk. Lymphoma*. 2016;57, 17-20.
- Acute Myeloid Leukemia - Cancer Stat Facts. SEER Available at: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/amyl.html>. (Accessed: 10th February 2019)
- Siegel RL, Miller KD & Jemal A. Cancer Statistics, 2017. *CA Cancer J Clin*. 2017;67, 7-30.
- Adès L, Itzykson R & Fenaux P. Myelodysplastic syndromes. *Lancet*. 2014;383, 2239-2252.
- Jabbour E et al. Acute myeloid leukemia after myelodysplastic syndrome and failure of therapy with hypomethylating agents: an emerging entity with a poor prognosis. *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk*. 2014;14, 93-97.
- Shukron O, Vainstein V, Kündgen A, Germing U & Agur Z. Analyzing transformation of myelodysplastic syndrome to secondary acute myeloid leukemia using a large patient database. *American Journal of Hematology*. 2012;87, 853-860.
- Okuyama N et al. Prognosis of acute myeloid leukemia transformed from myelodysplastic syndromes: A multicenter retrospective study. *Leukemia Research*. 2013; 37, 862-867.
- Enrico A et al. Influence of Acute Myeloid Leukemia Progression on the Prognosis of 831 Patients With Myelodysplastic Syndromes From the Argentine Database. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*.

- 2017;17, 743-752.e5.
17. Malcovati L et al. Time-dependent prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. *J. Clin. Oncol.* 2007;25, 3503-3510.
 18. Malcovati L et al. Impact of the degree of anemia on the outcome of patients with myelodysplastic syndrome and its integration into the WHO classification-based Prognostic Scoring System (WPSS). *Haematologica.* 2011;96, 1433-1440.
 19. Belli CB et al. Application of the revised International Prognostic Scoring System for myelodysplastic syndromes in Argentinean patients. *Annals of Hematology.* 2014;93, 705-707.
 20. Belli CB et al. Myelodysplastic syndromes in South America: A multinational study of 1080 patients. *American Journal of Hematology.* 2015;90, 851-858.
 21. Porta, MGD et al. Validation of WHO classification-based Prognostic Scoring System (WPSS) for myelodysplastic syndromes and comparison with the revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R). A study of the International Working Group for Prognosis in Myelodysplasia (IWG-PM). *Leukemia.* 2015;29, 1502-1513.
 22. Zipperer E et al. The myelodysplastic syndrome-comorbidity index provides additional prognostic information on patients stratified according to the revised international prognostic scoring system. *Haematologica.* 2014;99, e31-2.
 23. Bennett JM. Secondary acute myeloid leukemia. *Leukemia Research.* 1995;19, 231-232.
 24. Larson RA. Is secondary leukemia an independent poor prognostic factor in acute myeloid leukemia? *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 2007;20, 29-37.
 25. Hulegårdh E et al. Characterization and prognostic features of secondary acute myeloid leukemia in a population-based setting: A report from the Swedish Acute Leukemia Registry. *American Journal of Hematology.* 2015;90, 208-214.
 26. Østgård LSG et al. Reasons for treating secondary AML as de novo AML. *European Journal of Haematology.* 2010;85, 217-226.



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.

¿Cómo llevar a cabo un proyecto de investigación?

La pregunta de investigación y diseño de estudios clínicos

How to develop a research project
The research question. Study designs

Berro M.

Médico de planta del servicio de Hematología y Unidad de trasplante hematopoyetico, Hospital Universitario Austral

mberro@cas.austral.edu.ar



¿COMO LLEVAR A CABO UN PROYECTO DE INVESTIGACIÓN?

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 171-173
Octubre 2019

Palabras claves: pregunta de investigación,
hipótesis,
diseño de estudios.

Keywords: research question,
hypothesis,
study design.

Acaso la primera idea que se viene a la mente sea la cuestión de por qué investigar. En ambientes académicos europeos o estadounidenses parecería que el concepto de Descartes “pienso, luego existo”, se ha transformado en “investigo, luego existo”. Las carreras en instituciones hospitalarias de prestigio en el primer mundo deben combinar la tarea asistencial con la de investigación. La presión es muy importante, y se llega en ocasiones a sentir como una dolorosa realidad la frase en inglés “*publish or perish*”, pues la hoja de vida de un médico en Europa o en EEUU se mide por las producciones en publicaciones indexadas y en revistas de elevado factor de impacto. A modo de ejemplo, iniciamos un proyecto de investigación en el Instituto Anthony Nolan de Londres en febrero de 2008. Al llegar encontramos una idea ya formulada: el impacto de polimorfismos de TGFB1 en el trasplante alogénico no relacionado. El laboratorio contaba con numerosos congeladores con muestras de ADN (de pacientes y donantes) ordenadas numéricamente a las cuales se accedía de una manera simple y ordenada. Mesadas con máqui-

nas de PCR, técnica, que fue enseñada, para analizar el genotipo de más de 800 pacientes y sus respectivos donantes. Por último una base de datos con la información demográfica y los resultados post trasplante de dichos pacientes. A la vez fuimos entrenados en los métodos estadísticos para completar los análisis. En el lapso de un año ya habíamos enviado el manuscrito para publicación. En nuestras latitudes, salvo excepciones, no aplican estos conceptos ni contamos con estas facilidades.

Entonces, ¿por qué queremos investigar? Quien lee estas líneas posiblemente ya sepa, al menos, que quiere hacerlo. Las respuestas de por qué embarcarse en una tarea ardua pueden ser amplias. A modo de ejemplo, colegas nuestros respondieron por qué investigan. Las respuestas se pueden resumir en dos ideas. Por un lado intereses personales: disfrutan de la generación de conocimiento, mantenerse inquieto y con la cabeza estimulada, dar una mirada distinta a la asistencial. Por otro lado para poder brindarle a nuestros pacientes el mejor tratamiento posible. De ambas respuestas se desprende la idea de que en

nuestra práctica diaria hay preguntas sin responder. En este punto comienza el proceso de investigación: en la pregunta.

Para generar una buena pregunta de investigación primero hay que conocer bien qué se sabe de la materia y así encontrar la grieta (el “gap”) en el conocimiento. Es indispensable entender en profundidad la biología y fisiología del problema, su epidemiología (distribución, prevalencia, incidencia, pronóstico) y las frustraciones en la atención médica que conducen a resultados insatisfactorios para los pacientes⁽¹⁾. Así como observar la realidad con detenimiento para que, cuando algo ocurra diferente a lo esperado, despierte en nosotros la curiosidad del porqué⁽²⁾.

Por lo tanto se debe realizar una búsqueda sistemática en los buscadores médicos como Pubmed. Las palabras clave surgen de definir la población que quiero estudiar, la intervención o variable a analizar, así como el resultado o evento. Los términos deben ser traducidos correctamente y es conveniente usar conectores como “and”, “or” o “not”.

Para desarrollar nuevas ideas en jóvenes investigadores Vandenbroucke y Pearce recomiendan una serie de pasos⁽²⁾. Primero hacerse de experiencia en la materia a través de un mentor, una persona que tenga un camino recorrido y tenga interés en fomentar nuevas generaciones. Segundo, estar alerta a nuevas ideas “exprimiendo” la literatura médica, congresos nacionales e internacionales, con una actitud en alguna medida escéptica, para dar lugar a dudas que generen nuevas preguntas y, fundamentalmente, observando a los pacientes. Cuarto, en el ejercicio de la docencia damos lugar a que nuestro conocimiento se ponga en juego al tener que explicar los conceptos en mayor profundidad. Quinto y último dejar volar un poco la imaginación alrededor de las ideas. Algunos consejos útiles para saber si nuestro proyecto es interesante sería cuestionarnos si leeríamos el artículo si fuera publicado por otro grupo, si citaríamos los resultados ante colegas destacados en el tema o si agrega información relevante para nuestra práctica. El “para qué” que definiera Edward Huth (editor del *Annals of Internal Medicine*)⁽²⁾. George Lundberg, pasado editor de JAMA, definió que el mensaje final de un trabajo de investigación, o sea la respuesta a la pregunta, tendrá la posibilidad de iluminar en el conocimiento, agregar calor al debate o enfriarlo⁽⁴⁾.

Existen algunas herramientas que ayudan a desarrollar la pregunta de investigación. Una de ellas, que resume muchos de los aspectos antes mencionados, es la regla FINER⁽²⁾. Factibilidad (*Feasibility*), un proyecto factible en términos de tamaño muestral, manejo de las técnicas, presupuesto y tiempo disponible. Interesante (*Interesting*), el mensaje debería generar interés en los investigadores y revisores. Novedoso (*Novel*), el mensaje confirma, refuta o extiende resultados previos. Ético (*Ethical*), requiere de una aprobación por parte de un comité institucional. Relevante (*Relevant*), el mensaje es útil al conocimiento científico, para la práctica diaria o futuras investigaciones.

Una vez definida la idea, se debe formular correctamente la pregunta. Con este fin, en el contexto de la investigación clínica, resulta imprescindible la sistemática P.I.C.O. (población, intervención, comparación y resultado -outcome-). Continuando con el ejemplo anterior: en el trasplante alogénico de precursores hematopoyético (población) la presencia de polimorfismos del gen *TGFB1* (intervención) (ausencia del polimorfismo, comparación) predice la mortalidad post trasplante (outcome o resultado). La pregunta da lugar a la hipótesis, que consiste en una afirmación que, al momento de enunciarse, se desconoce si es cierta: la presencia de polimorfismos de *TGFB1* es un factor de riesgo para la mortalidad post trasplante alogénico. Por último surgen los objetivos del trabajo. El objetivo principal será el que responde directamente a la pregunta principal (mortalidad libre de enfermedad, sobrevida global) y los secundarios serán aquellos accesorios que ayudan a completar el mensaje (ejemplo: incidencia de enfermedad injerto-vs-huésped, recaída).

Una vez establecidos los objetivos primarios y secundarios se elige el diseño del estudio que se llevara a cabo. Existen dos grandes diseños: descriptivo y analítico⁽⁵⁾. Los estudios descriptivos, como el nombre lo aclara, describen frecuencias, sin buscar asociaciones causales. Incluyen reporte de casos, serie de casos, estudios de prevalencia, entre otros. Los diseños analíticos buscan factores causales o de asociación y se dividen en experimentales y observacionales. Los experimentales evalúan la eficacia o efectividad de una intervención asignada por el investigador, y por ende proveen la mejor evidencia de causalidad (ej.: estudios controlados, randomizados). En los observacionales el factor de exposición

no está controlado por el investigador. Incluyen estudios de cohortes (retrospectivos/prospectivos), casos y controles y corte transversal.

Siguiendo con el ejemplo anterior del estudio que buscó determinar la asociación entre la presencia de polimorfismo del gen *TGFB1* y la mortalidad post trasplante alogénico, se trataría de un estudio de cohorte prospectivo. A todos los pacientes que reciben un trasplante alogénico se les extrae sangre previo al procedimiento para estudiar la presencia de los polimorfismo y se hace un seguimiento en el tiempo evaluando la ocurrencia del evento definido (mortalidad post trasplante). Como resultado final se obtiene el riesgo relativo de la variable analizada en relación al evento.

Con los puntos anteriores establecidos se escribe el protocolo de investigación. Consiste en describir la pregunta, la relevancia, seguido de los objetivos primarios y secundarios. Luego se establece el diseño del estudio, se define la población con criterios de inclusión y exclusión, las variables a analizar (como van a ser definidas y a la vez recolectadas), qué métodos estadísticos serán utilizados. En conveniente establecer un cronograma, con la distribución del tiempo asignado a cada actividad y, por último, el presupuesto que será necesario para concretar el proyecto. El sitio web *equator*⁽⁶⁾, una iniciativa internacional cuyo objetivo es el de mejorar la calidad de las publicaciones médicas, brinda guías que facilitan la escritura de los protocolos de investigación y los manuscritos finales.

A diferencia de la experiencia en el Reino Unido, la local fue más ardua y laboriosa. El objetivo fue el de

validar los resultados previos, pero en el trasplante alogénico relacionado. Luego de obtener la aprobación por parte del comité de ética local, accedimos a los libros de ingreso de tipificación de HLA pre-trasplante. Con un código de ingreso buscamos las muestras de ADN guardadas en bolsas de 500 *ependorf*, separamos las correspondientes y obtuvimos alícuotas para genotipificar 250 pacientes y sus respectivos donantes. Los centros de trasplante recopilaron la información clínica definida para el trabajo de manera retrospectiva y finalmente realizamos los análisis estadísticos correspondientes. Después de cerca de 3 años enviamos el trabajo a publicar.

En nuestra actividad cotidiana podemos enfrentarnos con diferentes obstáculos durante el proceso de investigación. El primero y más difícil de superar es la falta de una idea original. Sólo se supera con mucho estudio, trabajo en equipo y buenos mentores con experiencia. La segunda, el presupuesto, que puede ser superada a través del conocimiento de subvenciones y becas que se encuentran disponibles. La tercera, la falta de apoyo metodológico, que debe ser atendido por las instituciones en las que nos desarrollamos. La cuarta, el tiempo: quienes dirigen los servicios que quieren tener producción científica deberán velar por algún tiempo protegido para los investigadores. Quinto, la casuística, superada con el trabajo colaborativo multicéntrico. Y por último, la escritura del manuscrito, para lo cual existen mentores con experiencia que pueden apoyar en este aspecto, o talleres dictados que brindan herramientas.

Conflictos de interés: el autor declara no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

1. Haynes B. Special series guidance for young investigators. Formin research question. *Journal of Clinical Epidemiology*. 2006;59:881-886.
2. Vandenbroucke JP y Pearce N. From ideas to studies: how to get ideas and sharpen them into research questions. *Clin Epidemiol*. 2018;10:253-264.
3. Hulley S, Cummings S, editors. Chapter 2: Conceiving the research question. In: *Designing Clinical Research, an Epidemiological Approach*. Baltimore, MD: Williams & Wilkins; 1988:12-17.
4. George Lundberg. How to write a medical paper to get it published in a good journal. *Med Gen Med*. 2005;7(4):36.
5. Hulley S, Cummings S, Browner W, Grady D y Newman T. *Designing clinical research*. Tercera edición. Lippincott Williams y Wilkins. 2013.
6. <http://www.equator-network.org>.



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.

Enfermedad residual medible en leucemia mieloide aguda. ¿Cómo evaluarla? Conceptos y aspectos de laboratorio.

How to evaluate measurable residual disease in acute myeloid leukemia? Laboratory tools

Zanella L.

Laboratorio de Especialidades Bioquímicas-Bahía Blanca

bmolecular@leblaboratorio.com.ar - lorezanella@yahoo.com.ar



CONCEPTOS
RELEVANTES SOBRE
ENFERMEDAD
RESIDUAL MEDIBLE
EN LMA

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 174-183
Octubre 2019

Palabras claves: Enfermedad Residual Medible
Citometría de Flujo Multiparamétrica
qRT-PCR.

Keywords: Measurable Residual Disease,
Multi-parameter flow cytometry,
qRT-PCR.

Introducción

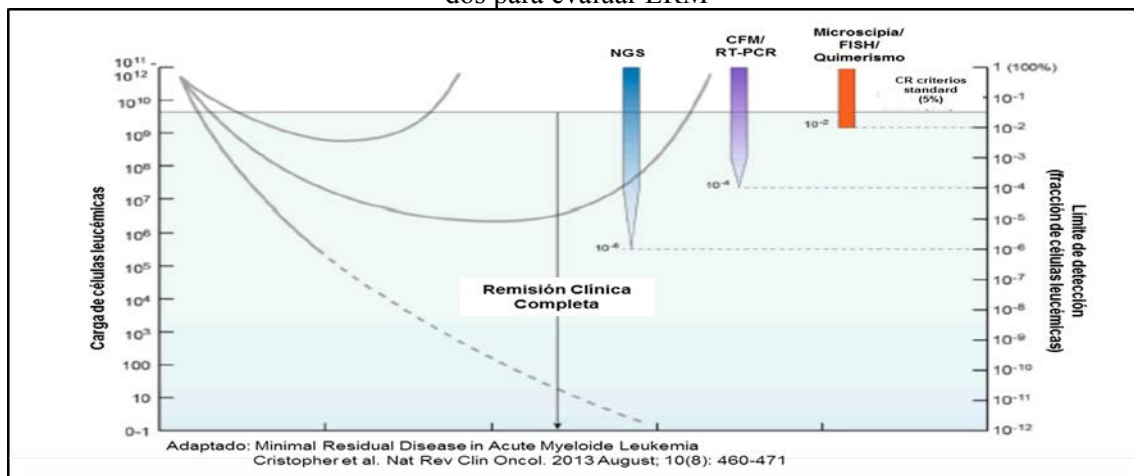
Actualmente la enfermedad residual medible (ERM), redefinida recientemente de la enfermedad mínima residual, es un indicador pronóstico independiente intratamiento en pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide aguda (LMA). Numerosas son las razones para emplear la detección de ERM en LMA, entre ellas: 1) establecer un estado de remisión completa más cercano a la realidad a través del empleo de una metodología objetiva y sensible, 2) optimizar el tratamiento post remisión y predecir resultados, 3) identificar la recaída temprana y anticipar una conducta terapéutica rápida, 4) monitorear de manera segura al paciente postrasplante y 5) emplear dicha información como objetivos terapéuticos para lograr acelerar las pruebas y la aprobación de medicamentos⁽¹⁾.

Métodos para evaluar ERM

Cuando hablamos de ERM nos referimos al empleo de técnicas lo suficientemente sensibles que detecten la presencia de células leucémicas a niveles de $1:10^4$ a $1:10^6$ leucocitos, en comparación con 1:20 evaluables por morfología. Debido a eso la importancia de conocer las técnicas disponibles y sus límites de detección⁽²⁾ (Figura 1).

En la actualidad se dispone de un amplio espectro de herramientas para evaluar ERM en LMA. Dos metodologías son las más utilizadas: la citometría de flujo multiparamétrica (CFM) y la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR). Cada una presenta sus ventajas y limitaciones, así como la posibilidad de ser aplicadas a determinados pacientes. Por otra parte, nuevas tecnologías como la citometría de masa, PCR digital en gota (ddPCR)

Figura 1. Comparación entre el umbral de la observación microscópica y los distintos métodos empleados para evaluar ERM



y la secuenciación de segunda generación (NGS del inglés) están surgiendo con resultados prometedores.

El objetivo del presente artículo es mencionar las metodologías disponibles en nuestro medio y comentar los desafíos futuros en el campo de la evaluación de ERM en LMA.

Citometría de flujo multiparamétrica

La evaluación de ERM por CFM requiere el empleo de un panel completo de anticuerpos monoclonales que incluyan: a) marcadores de células progenitoras (CD34, CD117), b) marcadores asociados a todo el linaje mieloide, y c) marcadores antigénicos aberrantes a la línea mieloide (CD2, CD7, CD19 o CD56).

En la evaluación de ERM por CFM se utilizan principalmente dos enfoques:

1) inmunofenotipo asociado a la leucemia (LAIP del inglés) que consiste en caracterizar el fenotipo de la leucemia al diagnóstico y luego identificarlo en los controles de enfermedad.

Diferencias con el fenotipo normal (DfN del inglés), que se basa en la identificación de perfiles de diferenciación/maduración aberrantes o asincrónicos comparados frente a su contraparte normal en el seguimiento de los pacientes. Dicha herramienta puede aplicarse incluso si se desconoce el fenotipo del diagnóstico, además permite identificar nuevas aberraciones o “cambios en el fenotipo”. En esencia, los LAIP son anomalías de DfN en la gran mayoría de los casos, y su gran utilidad depende del empleo de paneles amplios de marcadores antigénicos (pre-

feriblemente ≥ 8 colores), así como también de la experiencia del operador.

La armonización/estandarización de la configuración del instrumento, el procesamiento de las muestras, así como los paneles utilizados son pasos claves para la comparación de resultados entre laboratorios⁽³⁾.

En este sentido, el consorcio Euroflow ha implementado algoritmos diagnósticos con detalles técnicos de procesamiento de muestras, paneles inmunofenotípicos y análisis de resultados. Hoy en día se dispone de estrategias de seguimiento de enfermedad para pacientes con leucemia linfoblástica b (lla-b) y mieloma múltiple (MM)⁽⁴⁻⁵⁾ siendo aún un objetivo la presentación de un panel y sus condiciones de procesamiento y análisis para ERM de pacientes con LMA.

Detalles técnicos y recomendaciones

Tipo de muestra: médula ósea (MO) anticoagulada con EDTA^(3,6,7). Los expertos recomiendan evitar al máximo la hemodilución, por eso la primera muestra es la óptima⁽⁸⁻⁹⁾, por otra parte, los tiempos de transporte se deben optimizar para que sean lo mínimo posible y a temperatura ambiente.

Procesamiento de la muestra: actualmente existen dos modos en el procesamiento: 1) marcado con Ac./lisado/lavado (o no lavado) tiene la ventaja de reducir las pérdidas celulares; y 2) la lisis de la muestra entera/lavado/marcado con Ac. (y lavado), cuya ventaja es la marcación homogénea en todas las etapas. Ambos enfoques son válidos. La incubación de la muestra con los Ac. monoclonales se debe

realizar al abrigo de la luz para preservar la calidad de los fluorocromos.

El panel de expertos de *Europa LeukemiaNet* recomienda adquirir entre 500.000 y 1 millón de eventos sin contar el *debris* (CD45 negativo), a menos que la población de blastos sea evidente. Sin embargo, Euroflow en los paneles estandarizados de EMR para LLA-B y MM sugiere la búsqueda de enfermedad residual en un total de 10 millones de células a fin de aumentar la profundidad y alcanzar una sensibilidad comparable a técnicas moleculares^(4,5). Por lo tanto, es relevante detallar en el informe final la sensibilidad alcanzada, que será proporcional a la cantidad de células adquiridas, así como también a las células evaluables (despreciando el *debris*).

Sugerencias para el análisis: con el fin de minimizar la subjetividad del operador en la interpretación/análisis de datos se recomienda el empleo de programas que permitan la integración de datos y análisis multidimensional de archivos, así como también herramientas de separación automática de poblaciones (APS) y contrastar los resultados con bases de datos. Los programas disponibles brindan herramientas de análisis poderosas que siguen actualizándose para lograr análisis más sofisticados y así satisfacer las necesidades de los operadores.

Seguimiento de ERM durante el tratamiento y puntos de corte

El concepto actual es analizar ERM para evaluar el riesgo de recaída en un momento temprano antes de la terapia de consolidación. La mayoría de los estudios publicados hasta la fecha sugieren, en base a la relevancia clínica reportada, el empleo del valor de corte de 0.1% para distinguir a los pacientes con "ERM detectable vs no detectable"⁽¹⁰⁻¹³⁾. No obstante, varios estudios han evaluado niveles de ERM < a 0,1% (ej: 0.01%) para definir un grupo de pacientes con pronóstico particularmente buenos.

Control de enfermedad durante el seguimiento y definición de recaída

En general, la definición de positividad de ERM después de la terapia de consolidación es similar a la definición posinducción. No hay consenso sobre los intervalos de tiempo óptimos para evaluar ERM luego de fin de tratamiento.

Informe

El informe debe ser diseñado para permitir a los médicos sacar conclusiones claras sobre cómo interpretar la ERM. Se sugiere que el informe de ERM

contenga los siguientes parámetros:

- 1) datos completos del paciente y el médico solicitante.
- 2) detalles de la calidad de la muestra: células totales adquiridas, % de células CD45+, datos de hemodilución y de la calidad global de la muestra.
- 3) detalles de la ERM a) % de blastos b) aclaración de LAIP al diagnóstico c) de ser necesario aclarar cambios de LAIP/DfN.
- 4) sensibilidad: todas las aberraciones tienen un umbral de 0.1%, pero la información adicional sobre la naturaleza particular (sensibilidad/especificidad) de una aberración puede ser importante, por ejemplo, la naturaleza mieloide, primitiva, aberrante, y marcador de exclusión, especialmente en casos de LAIP recién definidos que no están presentes en el diagnóstico.
- 5) comentario final: conclusión breve y clara.
 - a. "ERM detectable".
 - b. "ERM negativo" → en casos de ausencia completa de células con aberraciones, no obstante el término "no se identificó ERM" es más apropiado.

→ ERM ≤ 0.1% detectable y cuantificable (Figura 2).

Futuro

Por otro lado, la citometría de masas (CyTOF) es una fusión de dos plataformas tecnológicas: la citometría de flujo y la espectrometría de masas elemental. En CyTOF, los anticuerpos están conjugados con isótopos de metales pesados, los cuales son cuantificados utilizando espectrometría de masas. La ventaja de CyTOF reside en la capacidad de detectar isótopos de diferente masa atómica con una precisión muy alta y una mínima superposición de señales. CyTOF es actualmente una herramienta de investigación en hematología muy prometedora⁽¹⁴⁾.

Biología molecular

El estudio de la ERM por técnicas moleculares puede ser abordado mediante dos grandes enfoques: PCR en tiempo real y secuenciación.

El enfoque de PCR en tiempo real (qPCR) incluye el empleo de sondas fluorescentes, PCR digital y análisis de quimerismo molecular. No obstante, su aplicabilidad en LMA está limitada al 40% de pacientes portadores de alguna alteración posible de monitorear.

Figura 2. Modelo de informe ERM por CFM

Figura 2. Modelo de informe ERM por CFM			
LABORATORIO DE HEMATOLOGIA			
Área:	CITOMETRIA DE FLUJO	Fecha:	
Nombre y Apellido		Médico solicitante:	
Células Totales Adquiridas:		Células adquiridas CD45+:	
Hemodilución:	Si / No / No evaluada		
La calidad de la muestra es:		Aceptable / Regular / No evaluable	
% Blastos			
LAIP:	Si		
	No	*No presentaba LAIP al diagnóstico	
		*No tenemos datos del diagnóstico	
Cambios de LAIP / DfN			
Sensibilidad:			
Conclusión: "ERMdetectable"			
"ERMnegativa" / *No detectable es lo recomendado			
"ERMdetectable y cuantificable pero de significado clínico incierto (<0,1%)"			

Por otro lado, la evaluación de ERM mediante NGS puede, teóricamente, aplicarse a todas las alteraciones genéticas de la LMA. Los avances en el manejo de esta herramienta de vanguardia como del soporte bioinformático seguramente permitirán su aplicación a un mayor número de pacientes.

En general, se recomienda que la metodología de elección permita detectar células leucémicas a un nivel de 0,1% (1 en 1000 células normales), por ello las plataformas de qPCR son hoy por hoy el patrón oro, debido a su alta sensibilidad (10^{-4} - 10^{-6}), además de ser una herramienta accesible en laboratorios especializados en hematología. En este sentido la leucemia mieloide crónica es un modelo de cómo el conocimiento de las bases biológicas de la enfermedad, el empleo de terapias dirigidas y la utilización de herramientas de laboratorio para su monitoreo a nivel molecular, han tenido un crecimiento rápido y transformador⁽¹⁵⁾.

Por su parte, en LMA es sabido que la persistencia en el tiempo de la mutación en el gen *NPM1* y de los genes de fusión *RUNX1-RUNX1T1*, *CBFB-MYH11* y *PML-RARalfa* después de la terapia es un fuerte predictor de recaída. Por tal motivo, los pacientes que presentan estas anomalías deben ser monitoreados mediante qPCR en distintos tiempos específicos del tratamiento, que serán comentados brevemente más adelante⁽¹⁾.

Detalles técnicos y recomendaciones:

El trabajo de Gabert y col quedó plasmado en la publicación "Europa contra el cáncer" donde, además de las secuencias de cebadores y sondas para la mayoría de los genes de fusión presentes en leucemias agudas, menciona varias recomendaciones técnicas y resalta la importancia de la estandarización del método qPCR^(16,17).

Tipo de muestra: ya sea MO (5-10 mL) o sangre periférica (SP) (10-20 mL) el anticoagulante debe ser

EDTA. Por razones de sensibilidad, se recomienda el uso de cADN sobre ADN para los genes que están bien expresados en las células de la LMA. Incluir por lo menos 1 ug de ARN para la reacción de retro-transcripción es lo recomendado por los expertos, a fin de obtener buen rendimiento de cADN⁽¹⁸⁾.

Procesamiento de la muestra: se recomienda realizar cada evaluación de qPCR, ya sea del gen control (GC) o el marcador molecular de la ERM, por triplicado, considerando positivo aquella muestra que presente 2 de 3 amplificaciones. Es mandatorio emplear controles: normal (ausencia del marcador molecular), al menos 2 controles positivos que cubren el rango de sensibilidad deseado y un control o blanco de contaminación. Si los controles positivos se generan a partir de plásmidos, la estabilidad de los mismos debe ser monitoreada regularmente.

Un cambio de status en la ERM de, no detectable a positiva, se recomienda reevaluar en una segunda muestra debido a la variabilidad del ensayo. Por otro lado, si se obtiene una medición de ERM negativa (no detectable), es esencial conocer el nivel de sensibilidad al que se determinó. Se ha sugerido la siguiente fórmula para calcular la sensibilidad de una medición de qPCR, la misma se puede usar para la cuantificación absoluta utilizando un calibrador externo de plásmidos para estimar números de moléculas diana, así como para la cuantificación relativa⁽¹⁹⁻²⁰⁾.

FORMULA: Sensibilidad del ensayo: 10^X

$X = [(CT_{\text{target}} - CT_{\text{GC}})_{\text{ERM}} - (CT_{\text{target}} - CT_{\text{GC}})_{\text{BL}}] / \text{pendiente}$

donde: CT: ciclo umbral (ciclo a partir del cual la lectura es cuantificable)

Target: marcador molecular empleado para evaluar ERM

GC: gen control (en nuestro medio se emplea ABL)

ERM: momento de cuantificación con valor clínico

Pendiente: para un ensayo con 100% de eficacia= -3.32

Se recomienda informar la sensibilidad del ensayo individual en aquellos pacientes con ERM no detectable (remisión molecular completa).

Lo ideal es informar la ERM con un mínimo de 10.000 copias del gen control *ABL*. Sin embargo, los resultados de ERM también se pueden informar entre 1.000-9.999 copias *ABL*, en tal caso es mandatorio aclarar con una nota que el número de copias

ABL fue inferior al óptimo.

Definiciones del status de enfermedad: es muy importante que en esta nueva etapa donde la evaluación de la ERM ha tomado mayor relevancia, tanto los hematólogos como el especialista del laboratorio empleen los mismos términos, los cuales a continuación serán detallados.

Remisión molecular completa (RC_{ERM}): es aquel paciente que logra la remisión morfológica completa y tiene ERM por biología molecular “no detectable” en dos muestras sucesivas con un intervalo de 4 semanas y por lo menos una sensibilidad de 1 en 1000 (10^{-3}). Tener presente que ERM negativa en presencia de blastos sugiere la pérdida del marcador molecular de ERM.

Persistencia molecular con bajo números de copia: dicho criterio se emplea para ciertos pacientes en los cuales persiste la ERM molecular en bajo número de copias o que el incremento relativo entre dos determinaciones luego de finalizado el tratamiento no supera 1 log (<1 log). Dichos valores se asocian con un riesgo bajo de recaída, por ello para estos pacientes valen las mismas recomendaciones que aquéllos en remisión molecular completa.

Progresión molecular: aquellos pacientes en persistencia molecular con bajo números de copia cuyo incremento de la ERM es mayor a 1 log entre dos determinaciones.

Recaída molecular: aquellos pacientes en remisión morfológica que logran la remisión molecular y pasan a ERM positiva. Por lo que se define “recaída molecular” como un aumento del nivel de ERM ≥ 1 log entre 2 muestras positivas (es decir determinación confirmada) de un paciente que previamente tenía ERM “no detectable” en muestras técnicamente adecuadas.

Utilidad clínica: momentos del monitoreo, tipos de muestras para la evaluación de la ERM.

Durante el tratamiento

Es de mucha utilidad considerar el nivel basal (diagnóstico) y como mínimo después de 2 ciclos de quimioterapia de inducción/consolidación estándar y al final del tratamiento en SP y/o MO. Varios trabajos contemplan la utilidad y proponen puntos de corte en SP para una mejor estratificación pronóstica. Para los pacientes candidatos a allo-TCHP, se debe evaluar la ERM en SP y/o MO después de la última quimioterapia convencional, pero no antes de las 4 semanas previas del tratamiento de acondicio-

namiento. Los puntos de corte/valores de referencia recomendados para la positividad de ERM se resumen en la Tabla 1, que muestra la sobrevida global y sobrevida libre de recaída de acuerdo a diferentes umbrales en base a distintos estudios previos⁽²¹⁻²⁸⁾.

Durante el seguimiento

En general, para los pacientes con *PML-RARalfa*, *RUNX1-RUNX1T1*, *CBFB-MYH11*, *NPM1* mutado y otros marcadores moleculares, se recomienda evaluación de ERM cada 3 meses durante 2 años después del fin de tratamiento en MO y en SP. El seguimiento en un período mayor a 2 años será basado en el riesgo de recaída del paciente y se decidirá individualmente. El impacto pronóstico de los diferentes niveles de ERM en el seguimiento también se resume en la Tabla 1. En este sentido la ERM será interpretada de acuerdo a la profundidad, por ello en esta instancia es de suma importancia informar la sensibilidad de cada ensayo.

Informe

Del mismo modo que en CFM, el informe de bio-

logía molecular debe contener toda la información necesaria para una clara interpretación por parte del hematólogo. A continuación, se detallan los parámetros indispensables para la confección del mismo (Figura 3):

- 1) datos completos del paciente y del médico solicitante.
- 2) Marcador molecular (*target*).
- 3) Metodología empleada: detalles técnicos.
- 4) Tipo de muestra: médula ósea, sangre periférica.
- 5) Momento del tratamiento: fin de inducción, consolidación, mantenimiento.
- 6) Cuantificación de *target*: n° de copias (CT es opcional).
- 7) Cuantificación del gen control (GC): n° de copias (CT es opcional).
- 8) Relación porcentual del *target* y GC: $\text{target/GC} \times 100$.
- 9) Resultado: “ERM no detectable”, “ERM detectable”.
- 10) Sensibilidad del ensayo: nivel de detección en

Tabla1. Valores de referencia de marcadores moleculares de ERM en pacientes con LMA en remisión morfológica completa mediante q-PCR.

Tabla 1: Enfermedad Residual Medible por biología molecular en LMA. Recomendaciones ELN					
Gen	Momento	SP / MO	Objetivo	Comentario	Referencias
NPM-1	Luego de 2 ciclos de quimioterapia	SP	No detectable	CIR* a 3 años 30% vs 82% (si es detectable) SG** a 3 años 75% vs 24% (si es detectable)	Ivey y col (21)
	Luego de 2 ciclos de quimioterapia	MO	No detectable	CIR a 4 años 30% vs 82% (si es detectable) SG a 4 años 75% vs 24% (si es detectable)	Krönke y col (22)
	Final de tratamiento	SP	No detectable	SG a 3 años 80%	Ivey y col
	Final de tratamiento	MO	No detectable	CIR a 4 años 15,7% vs 66,5% (si es detectable) SG a 4 años 80% vs 44% (si es detectable)	Krönke y col
	Seguimiento	MO	<200 copias/10.000copias ABL	No asociado a recaída	Krönke y col
	En aquellos pacientes con ERM (+) post tratamiento se recomiendan controles cercanos (en SP/MO) (cada 4 semanas durante al menos 3 meses) Si la ERM aumenta en términos logarítmicos --> considerar terapia de rescate. Si no se confirma un aumento o la ERM se vuelve indetectable --> realizar controles cada 3 meses durante 2 años				
RUNX1/RUNX1T1	Final de tratamiento	SP	No detectable	CIR a 4 años 23,6% vs 50,9% (si es detectable) SG a 4 años 96 vs 63,3% (si es detectable)	Willekens y col (23)
	Final de tratamiento	MO	No detectable	SLE* a 4 años 81% vs 61% (si es detectable) SG a 4 años 93 vs 67% (si es detectable)	Agrawal y col (24)
	Seguimiento	SP	<100 copias/10.000copias ABL	CIR a 5 años 7% vs 100% (si es >=100copias) SG a 5 años 95 vs 59% (si es >=100copias)	Yin y col (25)
	Seguimiento	MO	<500 copias/10.000copias ABL	CIR a 5 años 7% vs 100% (si es >=500copias) SG a 5 años 94 vs 57% (si es >=500copias)	Yin y col
	Considerar el nivel inicial de enfermedad, al final de los dos ciclos de quimioterapia y al final del tratamiento para evaluar la cinética de disminución. Una reducción >3log en MO entre el diagnóstico fin de inducción o consolidación se asocia a mejores respuestas Es posible que niveles estables sean detectados por años sin evidencia de enfermedad recaída				
CBFB-MYH11	Final de tratamiento	SP	<10 copias/10.000copias ABL	CIR a 5 años 36% vs 78% (si es >=10copias) CIR a 5 años 7% vs 97% (si es >=10copias) SG a 5 años 91% vs 57% (si es >=10copias)	Yin y col
	Seguimiento	SP	<10 copias/10.000copias ABL		Yin y col
	Seguimiento	MO	<50 copias/10.000copias ABL	CIR a 5 años 7% vs 100% (si es >=50copias) SG a 5 años 94% vs 57% (si es >=50copias)	Yin y col
	Considerar el nivel inicial de enfermedad, al final de los dos ciclos de quimioterapia y al final del tratamiento para evaluar la cinética de disminución. Es posible que niveles estables sean detectados por años sin evidencia de enfermedad recaída				
PML-RARalfa	Fin de consolidación	MO	No detectable	CIR a 3 años 11% (vs 34% si es detectable)	Sanz MA y col (26-28)
*CIR: incidencia acumulada de recaída **SG: sobrevida global *SLE: sobrevida libre de eventos					
Adaptado: Minimal/measurable residual disease in AML: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party					
Blood 2018 131: 1275-1291					

caso de “ERM no detectable”.

11) Interpretación: **remisión molecular completa, persistencia molecular con bajo números de copia, progresión molecular, recaída molecular.**

12) Recomendación (opcional): por ej. evaluar una nueva muestra en 4 semanas para confirmar status.

13) Gráfica de seguimiento (opcional).

Perspectivas a futuro

Secuenciación de segunda generación (NGS) y PCR digital (ddPCR)

La secuenciación de segunda generación se ha convertido en una herramienta importante en el diagnóstico de LMA, especialmente en el grupo con cariotipo normal, el cual se caracteriza por una alta heterogeneidad clonal⁽²⁹⁾. De hecho, diferentes clones, caracterizados por mutaciones específicas o combinaciones, pueden mostrar una sensibilidad variable a la terapia y una clara tendencia a la recaída. La ERM por NGS es potencialmente aplicable a todos los pacientes, pero la interpretación de los

resultados requiere enfoques bioinformáticos altamente especializados. Numerosos trabajos se llevan a cabo en dicha área. Jongen-Lavrencic y col analizaron mediante NGS-*target* 482 pacientes con LMA después de la terapia de inducción, observaron que las mutaciones persistieron en aproximadamente el 50% de los pacientes en RC y la presencia de la mayoría de las mutaciones se asoció con un mayor riesgo de recaída⁽³⁰⁻³¹⁾. Sin embargo, mutaciones persistentes como: *DNMT3A*, *TET2* y *ASXL1*⁽²⁹⁾, asociadas a hematopoyesis clonal de significado incierto (CHIP) no tuvieron un papel pronóstico, ya que los datos confirman que dichas mutaciones no son suficientes per se para generar el proceso leucémico, con lo cual no reflejan la presencia de una enfermedad específica, pero sí pueden establecer el panorama genético para el desarrollo de la misma. Por lo tanto, está claro que la evaluación de ERM basada en NGS se ve influenciada por la presencia de hematopoyesis clonal y clones ancestrales, principalmente en pacientes de edad avanzada, por lo

Figura 3. Modelo de informe ERM por biología molecular

Target:	<i>NPM1</i>								
Metodología:	qRT-PCR								
Momento del tratamiento:	ej. Fin de inducción								
Gen control <i>ABL1</i> :	XXX copias				Ct <i>ABL1</i> :	Opcional			
<i>NPM1-A</i> :	XXX copias				Ct <i>NPM1-A</i> :	Opcional			
% <i>NPM1-A/ABL1</i>	XX%								
Resultado:	Enfermedad residual medible no detectable								
Sensibilidad:	10 ^x								
Conclusión:	*Paciente en remisión molecular completa								
	*Paciente con persistencia de bajo número de copias								
	*Progresión molecular								
	*Recaída molecular								
Comentario:	Ej: se sugiere una nueva evaluación en 4 semanas								

que se necesita un enfoque bioinformático muy detallado⁽³²⁻³⁵⁾.

Respecto a la PCR en gota digital es un ensayo molecular recientemente introducido con un gran potencial para el monitoreo de ERM, debido a su alta sensibilidad y especificidad. Es una tecnología de alto rendimiento que, a diferencia de qPCR convencional, brinda una cuantificación absoluta, sin necesidad de una curva estándar de referencia. De hecho, aunque los ensayos de qPCR están hoy en día cuidadosamente estandarizados para cuantificaciones moleculares precisas⁽¹⁶⁾, el sesgo de amplificación por PCR puede influir en la eficiencia de la reacción, lo que conlleva a una cuantificación genética imprecisa.

En comparación con NGS, la ddPCR se caracteriza por una tasa de error inferior, mayor rapidez y no requiere un experto en bioinformática para analizar los resultados. Respecto a las desventajas, el principal inconveniente de la ddPCR es que se necesita desarrollar un ensayo específico para cada alteración. Entre las mutaciones clínicamente relevantes, las que afectan a *NPM1* son una diana ideal para evaluar mediante ddPCR, ya que no requiere una curva de amplificación estándar (actualmente disponible sólo para las tres mutaciones más comunes) y los resultados obtenidos son altamente concordante con qPCR⁽³⁶⁻³⁷⁾. Además de *NPM1*, los genes *DNMT3A* e *IDH1/2* están con frecuencia mutados en pacientes con LMA en etapas muy tempranas de la leucemogénesis⁽³⁸⁾. Dichos genes son detectables por ddPCR en la sangre periférica de individuos sanos, representando clones preleucémicos en el contexto de CHIP⁽³²⁾. Algunos estudios demostraron que las alteraciones de *DNMT3A* e *IDH* pueden persistir en pacientes en remisión durante un largo tiempo, lo que confirma que estas mutaciones no son específicas de la enfer-

medad y pueden eliminarse sólo luego del trasplante. Aunque el valor pronóstico de las mutaciones en *IDH* aún no está claro⁽³⁹⁾, Ferret y col demostraron que el monitoreo mediante ddPCR de mutaciones *IDH* después del trasplante podría ayudar a identificar tempranamente la persistencia de la enfermedad y anticipar la recaída hematológica⁽⁴⁰⁾.

Conclusión

La detección de ERM tiene una gran relevancia clínica en LMA. Los avances tecnológicos han aumentado su sensibilidad y especificidad, lo que la convierte en una herramienta esencial en la toma de decisiones terapéuticas.

La mayor complejidad de la evaluación de ERM relacionada con la persistencia de clones preleucémicos deberá tenerse en cuenta con técnicas más sensibles que empleen secuenciación de nueva generación.

Los diferentes métodos tienen indicaciones específicas y requieren una inversión muy importante de formación especializada. Cualquiera que sea el método indicado en la práctica clínica de rutina, es mandatorio el empleo de técnicas estandarizadas, análisis bioinformáticos rigurosos y la definición de puntos de monitoreo específicos, en el contexto de redes de laboratorio, que puedan garantizar la reproducibilidad interlaboratorio. Es posible que se empleen más de una técnica para evaluar la ERM, no obstante, los resultados deben integrarse, por lo que el trabajo en equipo es fundamental y de ese modo maximizar la información de utilidad clínica, con el objetivo final de abordar mejor el enfoque de tratamiento personalizado.

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

Bibliografía

1. Schuurhuis GJ, Heuser M, Freeman S, Ossenkoppele GJ y col. Minimal/measurable residual disease in AML: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood*. 2018;131:1275-1291.
2. Hourigan CS y Karp JE. Minimal Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia. *Nat Rev Clin Oncol*. 2013;10(8):460-471.
3. van Dongen JJM, Lhermitte L, Böttcher S. Euro-Flow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia*. 2012;26(9):1908-1975.
4. Theunissen P, Mejstrikova E, van der Velden VHJ y col. Standardized flow cytometry for highly sensitive MRD measurements in B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2017;129:347-357.
5. Flores-Montero J, Sanoja-Flores L, Paiva B, Orfao A y col. Next Generation Flow for highly sensitive and

- standardized detection of minimal residual disease in multiple myeloma. *Leukemia*. 2017;31:2094-2103.
6. Maurillo L, Buccisano F, Spagnoli A y col. Monitoring of minimal residual disease in adult acute myeloid leukemia using peripheral blood as an alternative source to bone marrow. *Haematologica*. 2007;92(5):605-611.
7. Zeijlemaker W, Kelder A, Oussoren-Brockhoff YJM y col. Peripheral blood minimal residual disease may replace bone marrow minimal residual disease as an immunophenotypic biomarker for impending relapse in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2016;30(3):708-715.
8. Loken MR, Chu S-C, Fritschle W, Kalnoski M y Wells DA. Normalization of bone marrow aspirates for hemodilution in flow cytometric analyses. *Cytometry B Clin Cytom*. 2009;76B(1):27-36.
9. Nombela-Arrieta C y Manz MG. Quantification and three-dimensional microanatomical organization of the bone marrow. *Blood Adv*. 2017;1(6):407-416.
10. Olaru D, Campos L, Flandrin P y col. Multiparametric analysis of normal and postchemotherapy bone marrow: implication for the detection of leukemia-associated immunophenotypes. *Cytometry B Clin Cytom*. 2008;74B(1):17-24.
11. Ossenkoppele G y Schuurhuis GJ. MRD in AML: does it already guide therapy decision making? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2016;2016:356-365.
12. Freeman SD, Virgo P, Couzens S y col. Prognostic relevance of treatment response measured by flow cytometric residual disease detection in older patients with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2013;31(32):4123-4131.
13. Walter RB, Buckley SA, Pagel JM y col. Significance of minimal residual disease before myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation for AML in first and second complete remission. *Blood*. 2013;122(10):1813-1821.
14. Gjertsen BT, Tislevoll BS, Fagerholt OHE y col. Early response evaluation in AML using mass cytometry. *Educational Updates in Hematology Book*. 2019;3(S2):3-5.
15. Baccarani M, Deininger MW, Rosti G et al. European Leukemia Net recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood*. 2013;122(6):872-884.
16. Gabert J, Beillard E, van der Velden VHJ y col. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia - a Europe Against Cancer program. *Leukemia*. 2003;17(12):2318-2357.
17. Beillard E, Pallisgaard N, van der Velden VHJ y col. Evaluation of candidate control genes for diagnosis and residual disease detection in leukemic patients using 'real-time' quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RQ-PCR) - a Europe against cancer program. *Leukemia*. 2003;17(12):2474-2486.
18. Hughes T, Deininger M, Hochhaus A y col. Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase methodology for detecting BCR-ABL transcripts and kinase domain inhibitors: review and recommendations for harmonizing current mutations and for expressing results. *Blood*. 2006;108:28-37.
19. Pallisgaard N, Clausen N, Schröder H y Hokland P. Rapid and sensitive minimal residual disease detection in acute leukemia by quantitative real-time RT-PCR exemplified by t(12;21) TEL-AML1 fusion transcript. *Genes Chromosomes Cancer*. 1999;26(4):355-365.
20. Shayegi N, Kramer M, Bornhäuser M y col. Study Alliance Leukemia (SAL). The level of residual disease based on mutant NPM1 is an independent prognostic factor for relapse and survival in AML. *Blood*. 2013;122(1):83-92.
21. Ivey A, Hills RK, Simpson MA y col. Assessment of Minimal Residual Disease in Standard-Risk AML. *N Engl J Med*. 2016; 374(5):422-433.
22. Krönke J, Schlenk RF, Jensen K-O y col. Monitoring of minimal residual disease in NPM1-mutated acute myeloid leukemia: a study from the German-Austrian acute myeloid leukemia study group. *J Clin Oncol*. 2011;29(19):2709-2716.
23. Willekens C, Blanchet O, Renneville A y col. Prospective long-term minimal residual disease monitoring using RQ-PCR in RUNX1-RUNX1T1-positive acute myeloid leukemia: results of the French CBF-2006 trial. *Haematologica*. 2016;101(3):328-335.
24. Agrawal M, Corbacioglu A, Paschka P y col. Minimal Residual Disease Monitoring in Acute Myeloid Leukemia (AML) with Translocation t(8;21)(q22;q22): Results of the AML Study Group (AMLSG). *Blood*. 2016;128(22). Abstract 1207.
25. Yin J L, O'Brien M, Hill RK y col. Minimal residual disease monitoring by quantitative RT-PCR in core binding factor AML allows risk stratification and predicts relapse: results of the United Kingdom MRC AML-15 trial. *Blood*. 2012;120(14):2826-2835.

26. Grimwade D, Jovanovic JV, Hills RK y col. Prospective minimal residual disease monitoring to predict relapse of acute promyelocytic leukemia and to direct pre-emptive arsenic trioxide therapy. *J Clin Oncol*. 2009;27(22):3650-3658.
27. Platzbecker U, Avvisati G, Cicconi L y col. Improved outcomes with retinoic acid and arsenic trioxide compared with retinoic acid and chemotherapy in non-high-risk acute promyelocytic leukemia: final results of the randomized Italian-German APL0406 trial. *J Clin Oncol*. 2017;35(6):605-612.
28. Sanz MA, Fenaux P, Tallman MS y col. Management of Acute Promyelocytic Leukemia: Updated Recommendations from an Expert Panel of the European LeukemiaNet. *Blood*. 2019;133:1630-1643.
29. Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L, Gaidzik VI, Paschka P, Roberts ND et al. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2013;368:2209-21.
30. Jongen-Lavrencic M, Grob T, Hanekamp D y col. Molecular minimal residual disease in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2018;378:1189-99.
31. Ravandi F. Is it time to routinely incorporate MRD into practice? *Best Pract Res Clin Haematol*. 2018;31:396-400.
32. Genovese G, Kähler AK, Handsaker RE y col. Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNAsequence. *N Engl J Med*. 2014;371:2477-87.
33. Zink F, Stacey SN, Norddahl GL y col. Clonal hematopoiesis, with and without candidate driver mutations, is common in the elderly. *Blood*. 2017;130:742-52.
34. Ottone T, Alfonso V, Iaccarino L y col. Longitudinal detection of DNMT3A R882H transcripts in patients with acute myeloid leukemia. *Am J Hematol*. 2018;93:E120-3.
35. Debarri H, Lebon D, Roumier C y col. IDH1/2 but not DNMT3A mutations are suitable targets for minimal residual disease monitoring in acute myeloid leukemia patients: a study by the acute leukemia french association. *Oncotarget*. 2015;6:42345-53.
36. Bacher U, Dicker F, Haferlach C y col. Quantification of rare NPM1 mutation subtypes by digital PCR. *Br J Haematol*. 2014;167:710-4.
37. Mencia-Trinchant N, Hu Y, Alas MA y col. Minimal residual disease monitoring of acute myeloid leukemia by massively multiplex digital PCR in patients with NPM1 mutations. *J Mol Diagn*. 2017;19:537-48.
38. Welch JS, Ley TJ, Link DC y col. The origin and evolution of mutations in acute myeloid leukemia. *Cell*. 2012;150:264-78.
39. Medeiros BC, Fathi AT, DiNardo CD y col. Isocitrate dehydrogenase mutations in myeloid malignancies. *Leukemia*. 2017;31:272-81.
40. Ferret Y, Boissel N, Helevaut N y col. Clinical relevance of IDH1/2 mutant allele burden during follow-up in acute myeloid leukemia. A study by the French ALFA group. *Haematologica*. 2018;103:822-9.



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.

¿Cuándo y para qué evaluamos enfermedad residual medible en leucemias mieloides agudas?

When and why we assess measurable residual disease in acute myeloid leukemias?

Rey IH

División Hematología del HGDA J.M. Ramos Mejía

irenehrey@gmail.com.ar



**CONCEPTOS
RELEVANTES SO-
BRE ENFERMEDAD
RESIDUAL MEDIBLE
EN LMA**

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 184-192
Octubre 2019

Palabras claves: leucemia mieloide aguda,
remisión completa molecular,
enfermedad residual.

Keywords: acute myeloid leukemia,
clinical trials,
complete remission,
measurable residual disease.

Sólo a través de lo revelado se puede acceder a lo oculto" ()*

Aún no surgen respuestas contundentes a estas preguntas, sin embargo es evidente que estamos transitando un camino apasionante en el conocimiento de las leucemias mieloides agudas (LMAs). Las perspectivas son variadas debido a su heterogeneidad y, en el ir haciendo, avanzamos hacia una comprensión más abarcadora y, al mismo tiempo, personalizada, guiados por la continua investigación sobre sus características intrínsecas. Vislumbramos un cambio no sólo en el modo de pesquisar residuos de enfermedad y actuar en consecuencia, sino también en las herramientas terapéuticas para su erradicación definitiva. En 1956 fueron propuestos los criterios para evaluar la respuesta al tratamiento de las LMAs⁽¹⁾ (Tabla 1) mediante el recuento celular, basado en la microscopía y en la experiencia en identificar blastos. La importancia de la erradicación profunda y temprana de

estas neoplasias fue reconocida al menos desde 1969, cuando Freireich y colegas establecieron que una "remisión completa (RC) clínica, es un paso temprano, importante, necesario pero insuficiente en LMA para lograr el control de la enfermedad a largo plazo"⁽¹⁾. Cuando en 1973 publicaron los primeros resultados al utilizar el esquema de tratamiento "7+3", el equipo de médicos del Roswell Park Memorial Institute en EEUU, dirigido por Jim Holland, manifestó que los pacientes que lograban remitir la enfermedad vivían más tiempo pero, para prevenir la recurrencia, era menester disminuir las células residuales con tratamiento adicional⁽²⁾. Claro que, debido a la baja sensibilidad de los criterios utilizados, algunas "remisiones completas" parecían "más completas" que otras^(4,9).

() Torah*

Tabla1. Criterios de evolución y respuesta para remisión completa en adultos con LMA.

	1956	2012
Médula ósea (MO)	Menos de 5% de blastos y ausencia de células que puedan ser individualmente identificadas como leucémicas	Menos de 5% de blastos y ausencia de blastos con bastones de Auer
Enfermedad extramedular	Ausencia de toda evidencia de infiltración	Ausencia de evidencia de enfermedad extramedular residual
Plaquetas	>100.000	>100.000
Neutrófilos	>200/mm ³	>1000/mm ³
Hemoglobina	>12 g/dl durante un mes	Libre de transfusión
Clínica	Sin síntomas atribuibles a leucemia	--
Se incluye una categoría adicional de "citogenética normal en aquéllos con citogenética anormal anteriormente", pero no se requiere para una respuesta morfológica completa en la categoría de remisión completa de las pautas de la NCCN de 2012 y se recomienda principalmente su uso en estudios de investigación clínica en el trabajo internacional actual. Pautas del IWG. Sin embargo, existe evidencia de que la persistencia de anomalías citogenéticas en pacientes con LMA en remisión completa se asocia con un peor pronóstico.		

Adaptado: Nat Rev Clin Oncol. 2013;10(8):460-471

El logro de RC morfológica es frecuente, pero con altas tasas de recaída. Por lo cual generaciones de científicos han estudiado formas de detectar trazas de células leucémicas que permanecen después de la terapia como un remanente llamado enfermedad residual "mínima", actualmente "medible" (ERM)⁽³⁾. Si bien, aunque desde hace más de 20 años viene siendo posible detectarla mediante la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa (RT-PCR) o por citometría de flujo (FC), el estado de RC siguió siendo definido por más de 40 años por morfológica, siguiendo los parámetros establecidos según conceptos primitivos y ligeramente modificados en el año 2013 por el International Working Group (IWG), mediante microscopía óptica. De este modo RC quedó definida como: <5% de mieloblastos en MO, ausencia de blastos circulantes, recuperación hematológica (neutrófilos > 1.000/μL, plaquetas > 100.000/μL), ausencia de enfermedad extramedular y el no requerir transfusiones (Tabla 1)^(4,9). Un dato importante a tener en cuenta es que esos criterios fueron la base para evaluar la eficacia de nuevos fármacos en ensayos clínicos durante muchos años.

En este estado altamente diverso de "remisión completa" tomamos decisiones clínicas con respecto al tratamiento posterior y estratificamos a los pacientes, según características que se asocian con mayor

riesgo de recaída, siguiendo variables identificadas en el momento del diagnóstico^(5,6) extraídas de resultados y observaciones clínicas de grandes poblaciones históricas, con características citogenéticas y moleculares similares, pero sin incluir una evaluación más personalizada sobre el paciente, en cuanto a considerar la eficacia del tratamiento de inducción, que es el momento de definir el tipo de consolidación más apropiado.

Las características de pronóstico estándar previo al tratamiento han segregado a los pacientes en clases de riesgo favorable, intermedio y desfavorable. Dentro de cada una de esas categorías, la ERM agrega un valor independiente, para determinar el pronóstico, con menor impacto sobre los pacientes catalogados de inicio con riesgo desfavorable⁽⁶⁾.

Amplios estudios ya han confirmado la importancia decisiva de la ERM en la estratificación del riesgo de recaída de la LMA (aunque en su mayoría retrospectivos) y, por eso, su persistencia puede impactar en la decisión terapéutica a seguir⁽⁷⁾. En este sentido, la excelente evidencia en la toma de decisiones clínicas en pacientes con leucemia linfoblástica aguda (LLA) basada en CFM, así como en leucemia promielocítica aguda (LPA)⁽⁸⁾ mediante el análisis de RT-PCR, instaló a estas evaluaciones como un estándar de seguimiento para adoptar conducta terapéutica. Asimismo, la tecnología cuantitativa re-

acción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (RQ-PCR) en leucemia mieloide crónica (LMC) fue responsable del desarrollo de fármacos, criterios de respuesta, pautas de tratamiento, detección y análisis de fracasos⁽⁷⁾.

El conocimiento creciente de marcadores moleculares y el desarrollo de nuevas tecnologías: RQ-PCR, citometría de flujo multicolor (CMF) reacción en cadena de la polimerasa digital (dPCR), secuenciación de próxima generación (NGS), permitió determinar residuos mensurables de enfermedad (ERM) con alta sensibilidad⁽⁹⁾.

Así es que, para estratificar a los pacientes con LMA según el riesgo de recidiva, fueron consideradas las anomalías genéticas recurrentes, como lo ilustra la clasificación de *European Leukemia Net* (ELN) 2017⁽¹⁰⁾, incluyendo mutaciones como *NPM1*, *FLT3-ITD*, y también pequeñas inserciones, deleciones y mutaciones puntuales que ocurren a lo largo de TP53, RUNX1 y ASXL1, (éstas últimas asociadas con resultados adversos)(11). Incorporaron, además, recomendaciones para diagnóstico, manejo y nuevos criterios para facilitar las evaluaciones de respuesta en ensayos clínicos, entre los que se destaca la nueva categoría de respuesta o de remisión completa sin enfermedad residual medible: **RC-ERM(-)**, (*CR MRD-*), que establece la importancia del estado de ERM, y cuya presencia es el mejor predictor de recaída.

En marzo de 2018 fue publicado un documento de consenso elaborado por una comisión integrada por el grupo de trabajo de leucemia para abordar estas cuestiones y proporcionar directrices, aportando sugerencias en la detección e informe de ERM⁽¹¹⁾. Ello representa un paso muy importante en este difícil camino que intenta estandarizar resultados de diferentes centros y evaluar entidades tan heterogéneas cuya constitución genética y expresión puede ir cambiando dentro de su propia evolución⁽¹²⁾. Independientemente de la metodología utilizada y a pesar de la falta de estandarización, el estado de ERM está asociado con el resultado clínico, permitiendo establecer un concepto sólido, que no se deja influenciar fácilmente por los aspectos técnicos: “no detectar enfermedad es mejor”, introduciendo entonces definitivamente un enfoque post-tratamiento que impacta sobre el resultado de los factores pre-tratamiento para identificar pacientes con probabilidad de fracaso.

1. **RQ-PCR y CFM** han demostrado ser lo suficientemente sensibles y específicos para el monitoreo del ERM en la LMA.

La **CFM** sería aplicable a todos los pacientes con LMA y, aunque la generalización se complica por la falta de un procedimiento estandarizado, es excelente para determinar ERM, a pesar de que el peso de la experiencia de los operadores en el resultado no es un tema menor.

Los autores del consenso del ELN proponen combinar las dos filosofías de detección de ERM por CMF, la que se basa en los inmunofenotipos asociados a la leucemia diagnóstica (LAIP) con la estrategia diferente de la normal (DfN), denominándolo entonces “enfoque de DfN basado en LAIP”. Recomendando mantener el umbral en 0,1%, derivado de estudios retrospectivos, para distinguir la ERM(+) de la ERM(-), advirtiendo que los niveles de ERM por debajo del 0,1% todavía pueden ser definitorios para el pronóstico y que, en la recaída, esta neoplasia puede modificar el inmunofenotipo⁽¹²⁾.

Dos grandes trabajos prospectivos y multicéntricos, con la técnica de CMF identifican la ERM como indicador pronóstico independiente en adultos con LMA. El del HOVON/SAKK-AML 42 A⁽¹⁴⁾ concluye que, en la práctica clínica, esta evaluación resulta más útil de aplicar a pacientes con riesgo pronóstico intermedio, ya que representan una combinación de subcategorías de riesgo variable, con una gran heterogeneidad en el resultado del tratamiento. En esta experiencia, la ERM tuvo un valor pronóstico independiente, asentando que su detección por CMF ofrece una herramienta poderosa que se puede usar prospectivamente para la toma de decisiones⁽¹⁴⁾. La presencia de ERM luego del segundo ciclo de quimioterapia, implicó un factor pronóstico adverso independiente que detectó que un 23% de los pacientes estaban el riesgo de recaída.

Otra experiencia sobre 892 pacientes mayores de 60 años con LMA⁽¹⁵⁾, dentro el estudio AML16, demostró que la ERM tuvo relevancia clínica surgiendo del análisis de 2123 muestras por CMF con datos de ERM provenientes de 427 pacientes que alcanzaron RC después de uno o dos ciclos de quimioterapia. A pesar de las posibles dificultades técnicas al evaluar médulas óseas hipoplásicas/displásicas, en pacientes añosos, identificaron en la mayoría de los pacientes al menos un LAIP, advirtiendo que en algunos casos éste puede ser semejante al observado

en mielodisplasias, dificultando discriminar entre los clones displásicos de menor riesgo y los blastos de LMA.

Queda claro entonces que evaluar ERM al final de la consolidación por CMF, puede desdibujar las distinciones entre grupos de riesgo por citogenético y molecular pre-tratamiento.

Otras dos experiencias testearon la eficacia de la CFM multiparamétrica post inducción y la confirmaron como una variable de peso independiente para planificar el tratamiento posterior. Por un lado, Ravandi y col. en una cohorte de 280 adultos, 186 de ellos evaluados al alcanzar RC, tratados con dosis intermedias de citarabina + idarrubicina, demostraron que la ausencia de ERM se asocia con una mejoría altamente significativa en los resultados de pacientes más jóvenes (mediana: 51 años) en la supervivencia libre de recaída y global ($p=0.002$)⁽¹⁶⁾. Por otro lado, Chen y col. en un análisis retrospectivo sobre 245 adultos (165 de reciente diagnóstico y 80 recidivas refractarias) con RC e incompleta, observaron que este último grupo, junto con aquéllos que presentaban ERM por CFM multiparamétrica de 10 colores, constituyen variables que predicen recaída⁽¹⁷⁾.

La experiencia del ensayo multicéntrico en población pediátrica AML02, medida por CFM en 232 pacientes, sugiere combinar ERM y características genéticas como estrategia integral para estratificar según riesgo y generar así un enfoque de tratamiento de quimioterapia y trasplante dirigidos a ERM, con el cual lograron mejorar los resultados⁽¹⁸⁾.

Son de gran aporte las experiencias que evalúan el impacto de ERM con CFM en el peri trasplante. Dado que la inmunoterapia más eficaz para tratar neoplasias hematológicas es el trasplante alogénico, esta pesquisa podría permitir la selección apropiada de pacientes según su riesgo individual de recaída y diagramar el tratamiento antes de una recaída clínica/hematológica franca⁽¹⁹⁾. Las similitudes en los resultados entre los pacientes con remisión morfológica pero ERM positiva y aquéllos con enfermedad activa en el momento del trasplante, apoyan el uso de algoritmos de tratamiento que utilizan ERM, dado que su presencia impacta tanto en la recaída (RC con ERM+: 67%; enfermedad activa: 65% vs ERM-negativa: 22%) como en la supervivencia (a 3 años 26%, 23% y 73% respectivamente)⁽²¹⁾.

Detectar ERM antes o después del trasplante de cé-

lulas hematopoyéticas (TCH) identifica pacientes en riesgo de resultados deficientes. En un estudio basado en 279 adultos, aquéllos con ERMneg / ERMneg tuvieron excelentes resultados, mientras que los pacientes con ERMneg / ERMpos murieron dentro de los 100 días posteriores al TCH y, para los pacientes con ERM pre-TCH, los resultados fueron malos, independientemente del estado de ERM post-TCH, datos que indican que los pacientes con ERM positiva antes del TCH tienen un alto riesgo de recaída aunque la negativicen con el acondicionamiento, sugiriendo la necesidad de estrategias terapéuticas preventivas⁽²¹⁾. Además, la ERM+ en el pre-TCH aumenta el riesgo de muerte⁽²¹⁾.

Otros han demostrado que evaluar ERM en el post-TCH inmediato también aportaría elementos para estratificar a los pacientes⁽²²⁾, identificando a un grupo de muy alto riesgo de recaída dentro del primer año. Los pacientes con ERM+ en el día +30 post-TCH, tuvieron el mayor riesgo de recaída, con una incidencia del 78% en 1 año y la menor supervivencia estimada en 27% en un año^(21,22).

2. La otra modalidad de seguimiento se apoya en las herramientas que brindan las técnicas moleculares. Si bien no se encuentra en todos los casos una secuencia diana reordenada o aumentada, existe una búsqueda de genes expresados en LMA en mayores niveles que en tejidos normales para que puedan servir como objetivo para RT/RQ-PCR, técnica aplicable al 40% de pacientes con LMA aproximadamente. (*NPM1 mut; CBFβ-MYH11; RUNX1-RUNX1T1; PML-RARA*)⁽⁹⁾.

Las LMA-CBF: t(8;21)(q22;q22.1); inv⁽¹⁶⁾(p13.1;q22), son subtipos ideales para el monitoreo de ERM basados en RQ-PCR, por contar con un blanco molecular estable específico. Comprenden aproximadamente el 20% de los pacientes con LMA, de riesgo favorable, según la estratificación citogenética y molecular, debido al alto porcentaje de pacientes que logran una RC duradera con quimioterapia intensa y sin TCH. Contar con información de pronóstico adicional en estos subconjuntos permitiría considerar al TCH como una opción para aquéllos con mayor riesgo de recaída. Al respecto, varios grupos aportaron su experiencia y conclusiones como el MRC AML15 del Reino Unido, en el que una evaluación prospectiva de 278 pacientes mediante RT-PCR cuantitativa demostró el valor clínico del monitoreo de ERM en 163 pacientes con

t(8;21) y 115 con inv⁽¹⁶⁾, demostrando en un análisis multivariado que la variable pronóstica de mayor peso fue el grado de reducción de la ERM, > 3 log en los transcriptos RUNX1-RUNX1T1, y > 10 log de CBFb-MYH11. Dato de valor durante el seguimiento, en el cual identificaron niveles umbrales que predicen una tasa de recaída del 100%.

En otras experiencias, utilizando RT-PCR anidada, constataron que los transcriptos de ambos genes de fusión, pueden detectarse después de quimioterapia, trasplantes autólogo y alogénico de MO, durante la RC, por tiempo prolongado, como persistencia de ERM, sin llegar a recaída hematológica. La mayoría de los pacientes en RC prolongada presentan PCR-negativa, y se ha atribuido la persistencia en unos pocos a poblaciones quiescentes de células madre, monocitos y células B que albergan el gen de fusión. En consecuencia, se impone cuantificar los transcriptos⁽²³⁾.

En el estudio multicéntrico francés CBF-2006, se realizó un monitoreo prospectivo de muestras de sangre cada 3 meses y de MO cada año, durante dos años, luego de quimioterapia intensiva, en 94 pacientes en RC. La RC molecular fue definida con un valor $< 0.001\%$ al final de la consolidación lograda por el 30% de los pacientes, pero el método no resultó predictivo de recaída, aún en 8 pacientes (9%) en los que continuó siendo positivo por dos años⁽²⁴⁾. Un grupo alemán también estudio el impacto pronóstico del monitoreo de ERM en esta entidad, utilizando QRT-PCR en MO, en puntos de tiempo definido: diagnóstico, primero y segundo ciclo de quimioterapia. Evaluando a 120 pacientes, concluyeron que la ERM negativa al final del tratamiento en MO tiene un impacto positivo significativo⁽²⁵⁾.

Como no todos los pacientes con LMA-CBF muestran un buen resultado, ya el intergrupo francés había mostrado su experiencia al investigar si otros factores de riesgo modernos como mutaciones en el gen *KIT* y/o *FLT3* y niveles de ERM ejercían un impacto. Sobre un total de 198 pacientes aleatorizados entre un curso de inducción reforzado y uno estándar, seguidos de 3 cursos de consolidación con citarabina en dosis altas, monitorearon en forma prospectiva, los niveles de ERM. A pesar de lograr una disminución más rápida después de la inducción reforzada, no influyó en la supervivencia sin recaída (64% en ambos brazos; $p = .91$). Las mutaciones de los genes, *KIT* y *FLT3*-ITD/TKD, y una reducción

de ERM de menos de 3 log después de la primera consolidación, se asociaron con un mayor riesgo específico de recaída, pero la ERM siguió siendo el único factor pronóstico en el análisis multivariado⁽²⁶⁾. Ello llevó a los autores a sugerir el utilizar sólo ERM para estratificar y definir tratamiento en pacientes con LMA-CBF⁽²⁶⁾.

Colegas chinos aplicaron la estrategia de tratamiento dirigido al riesgo, con el objetivo de mejorar el resultado del tratamiento de los pacientes con LMA t(8;21) basados en la ERM determinada por los niveles de transcripción de RUNX1/ RUNX1T1. Entre los 116 pacientes elegibles, el estado de ERM después de la segunda consolidación, en lugar de post-inducción o primera consolidación, podría discriminar a los pacientes con alto riesgo de recaída ($p = .001$). Por lo tanto el TCH alogénico estaría indicado para mejorar la supervivencia en lugar de quimioterapia en estos pacientes de alto riesgo, ya que la incidencia acumulada de recaída fue: 22.1% vs 78.9%, ($p < .0001$) y la supervivencia libre de enfermedad (SLE) de: 61.7% vs 19.6% , ($p = .001$), mientras que en los pacientes de riesgo bajo lograron tasas de recaída baja (5.3%) y SLE alta (94.7%) con quimioterapia / auto-TCH. El análisis multivariado reveló que el estado de la ERM y la elección del tratamiento eran factores pronósticos independientes para la recaída, concluyendo que el estado de ERM después de la segunda consolidación puede ser el mejor momento para la elección del tratamiento⁽²⁷⁾. Entre las estrategias terapéuticas para mejorar los resultados de estos pacientes, el grupo de estudio de LMA alemán-austriaco (AMLSG), obtuvo resultados favorables al agregar inhibidor de multiquinasa dasatinib junto a quimioterapia intensiva de inducción y consolidación y como agente único durante 1 año de mantenimiento. Tiene en curso un ensayo confirmatorio (AMLSG 21-13) evaluando valores de transcriptos versus un control histórico⁽²⁸⁾.

Una experiencia sobre 134 pacientes tratados intensivamente se centró en evaluar la presencia de RUNX1-RUNX1T1 con RT-PCR de modo rutinario y sin puntos de tiempo previamente especificados. Luego de una mediana de ocho meses, 79/134 lograron RC (59%) con alta varianza para alcanzar RC molecular (1 a 4 meses) coincidiendo con otros informes en cuanto a la larga persistencia de transcriptos. A pesar de que los datos provienen de un estudio sin reglas de tiempo, coincide con otras ex-

perencias en lo valioso de medir copias de transcritos para discriminar pacientes, ya que ERM negativo se asoció con pronóstico excelente, pero la recaída de una RC molecular tuvo alta varianza (4 a 37 meses), lo que puede dificultar la detención del monitoreo de la ERM. Por ello podría ser de ayuda reiterarlo con frecuencia en los que no logran la negatividad⁽²⁹⁾.

Con respecto a la evaluación y seguimiento de otras LMA, con citogenético normal (LMA-CN) y sin un blanco genético, muchas experiencias se han centrado en WT1, que es un factor de transcripción presente en otros tejidos y en un subconjunto de precursores hematopoyéticos, además de hallarse sobreexpresado en el 80 a 90% de LMA, razón por la cual han evaluado la magnitud de su reducción logarítmica luego de quimioterapia de inducción como factor predictivo independiente de recaída (reducción < 2 log, asociado a 75% riesgo de recaída a 5 años y sólo 40% en reducción > 2 log)^(9,30,31).

Otra mutación genética frecuente en LMA es la de nucleofosmina (*NPM1*mut), (entre el 25 -30%). Parece ser un marcador estable que permite monitorear ERM. Su presencia se asocia invariablemente a recaída hematológica⁽³³⁾ y los niveles crecientes la predicen en un tiempo promedio de 8 semanas⁽³⁴⁾. El grupo AMLSG, evaluó en forma prospectiva a 245 pacientes adultos, y ante RC morfológica, la presencia de ERM por *NPM1*mut influyó significativamente en el pronóstico. Fueron evaluados luego de cada ciclo de tratamiento, destacando que la CIR a 4 años fue 15,7% en 62 pacientes en RC-ERMneg con SG: 80%, mientras que fue de 66% si RC-ERMpos y SG 44%. En este estudio la concordancia entre MO y SP fue del 88%, prefiriendo MO durante el tratamiento y SP en el monitoreo posterior. Cuando *NPM1*mut superó las 200 copias, predijo la recaída en el 100%⁽³⁶⁾. Varios estudios han demostrado la estabilidad de las alteraciones del gen *NPM1*, lo cual permite identificar a un grupo de pacientes con mayor riesgo de recaída con alta sensibilidad⁽³⁷⁾. Han sumado su experiencia al respecto Ivey y col. del grupo de trabajo LMA del Reino Unido, sobre 346 pacientes en los que destacaron la heterogeneidad molecular de LMA de riesgo estándar con *NPM1*mut y que la medición de las transcripciones mutantes al final de la inducción en el ensayo NCRI AML17 proporcionó información pronóstica potente, ya que el 82% de los pacientes con *NPM1*mut

detectable recayó, pero también lo hizo un tercio de los pacientes sin *NPM1*mut detectable. Esto plantea si las mutaciones genéticas distintas de *NPM1* estaban presentes en aquellas células que sobrevivieron a la quimioterapia, lo que llevó a una recaída en la cohorte *NPM1*-negativa para ERM⁽³⁵⁾. Igualmente, en el análisis multivariado, la ERM por *NPM1*mut fue el único factor pronóstico de muerte.

Un estudio que incluyó a 40 centros alemanes (SAL) evaluó en 174 pacientes en forma retrospectiva el nivel de enfermedad residual basados en *NPM1*mut, destacándolo como factor pronóstico independiente para recaída y supervivencia. Las mediciones de ERM revelaron que aumentos de 1% luego de quimioterapia y de 10% luego del trasplante alogénico, fueron significativos como indicadores de recaída y como herramienta para definir una intervención terapéutica temprana⁽³⁷⁾.

La importancia pronóstica del nivel de enfermedad residual mínima (ERM) en pacientes adultos con leucemia mieloide aguda (LMA) tratados en el ensayo aleatorio gemtuzumab ozogamicina (GO) ALFA-0701 fue analizada a través de los niveles de transcritos de los genes *WT1* y *NPM1* mediante RT-PCR cuantitativa en 183 pacientes con sobreexpresión de *WT1* y en 77 pacientes con mutación *NPM1* (*NPM1*mut) en el momento del diagnóstico⁽³⁸⁾. La ERM *WT1* positiva (definida como > 0.5% en la sangre periférica) después de la inducción y al final del tratamiento, se asoció significativamente con un mayor riesgo de recaída y una supervivencia general (SG) más corta. La *NPM1*mut positiva (definida como > 0,1% en MO) después de la inducción y al final del tratamiento, también predijo un mayor riesgo de recaída, pero no influyó en la SG. Curiosamente, el logro de ERMneg por *NPM1*mut negativo fue significativamente más frecuente en los pacientes tratados en el brazo GO en comparación con los tratados en el brazo control: 39% versus 7% (p = 0,006) después de la inducción y 91% versus 61% (p = 0,028) al final del tratamiento. Sin embargo, GO no influyó en los niveles de MRD *WT1*.

Otros marcadores moleculares estables para el monitoreo de ERM incluyen *DNMT3A*, *CEBPA* y *FLT3*. Se ha planteado que éste último podría ser útil para predecir recaída en el post trasplante^(39,40).

En el camino hacia el futuro se impone la secuenciación de la próxima generación (NGS) que, entre sus ventajas, destaca la mayor sensibilidad, aplicable a

todos los pacientes, y el poder evaluar ERM en sangre, pero iremos aprendiendo sus propias complicaciones, como el saber interpretar la presencia de genes mutados en pacientes que son frecuentes en personas mayores y sanas: las llamadas mutaciones DTA (*DNMT3A*, *TET2*, *ASXL1*). En un estudio prospectivo sin precedentes de gran tamaño la detección dirigida de ERM por NGS indica que es un predictor poderoso e independiente de recaída y supervivencia. Tales mutaciones persistentes relacionadas con hematopoyesis clonal (CHIP) carecen de valor pronóstico. Entonces, cuando excluyeron las mutaciones DTA, encontraron que las personas con mutaciones persistentes tenían una tasa de recaída significativamente más alta: 55.4% versus 31.9% ($p = .001$)⁽⁴¹⁾.

► Entonces: CUÁNDO Y PARA QUÉ:

Evaluar la carga de enfermedad post tratamiento o ERM como factor pronóstico del riesgo de recaída puede superar a los marcadores moleculares de la biología de la enfermedad, considerados en el pre-tratamiento, lo cual es provocativo y contrario a la práctica clínica habitual.

3. ¿CUÁNDO?

Según las sugerencias surgidas de las recomendaciones de ELN 2017, el consenso de ELN-MRD *Workyn Party* 2018 para evaluación de ERM y la suma de experiencias internacionales referidas:

1) En el DIAGNÓSTICO: es menester, en primer lugar, identificar lo más específicamente posible las características del clon leucémico en el momento del diagnóstico, lo que permitirá evaluar enfermedad residual y cuantificarla (además, puede informar datos para estudiar a donantes familiares/línea germinal).

2) Luego de DOS CICLOS de quimioterapia: dos inducciones o inducción + 1ª consolidación (lo más cercano posible del inicio de la consolidación).

3) FINAL de tratamiento

4) PRE-TRASPLANTE

5) POST-TRASPLANTE inmediato

6) MONITOREO: cada 3 meses, durante 24 meses a partir del final del tratamiento en MO y SP.

a. Seguimiento molecular: recomendado en LPA, LMA-CBF; LMA-NPM1mut, en momentos críticos de cada paciente individual. Marcadores adecuados para ERM: *NPM1*, *RUNX1-RUNXT1*, *CBFB-MYH11*, *PML-RARA*; (NO son utilizables *DNMT3A*, *TET2*, *ASXL1*: mutaciones “DTA”)

b. Seguimiento con CMF: todos los pacientes.

Es difícil aún inferir una recomendación fuerte, incluso algunos autores al basarse en observaciones sobre estudios retrospectivos (HOVON), sugirieron que la cinética de la recurrencia de las enfermedades, disminuye la utilidad del monitoreo (o poder predictivo) de la ERM. Aun en subtipos como LMA-CBF para las que se dispone de técnicas moleculares confiables y sensibles.

En pacientes tratados con agentes que inducen diferenciación celular, como el ácido all-transretinoico y los inhibidores de IDH2, la ERM, puede evidenciar persistencia de la variante genética, ya que una célula que se diferencia, no muere de inmediato. Por lo tanto, ERM es un objetivo cambiante, y las modificaciones en el tratamiento condicionan la interpretación de los resultados.

4. ¿PARA QUÉ?

Objetivo: **RC-ERM negativa**

1) Para evaluar el RIESGO DE RECAÍDA:

a. LMA-ERM POSITIVA: por CMF y/o RQ-PCR es indicador pronóstico independiente de **riesgo de recaída** y menor supervivencia.

b. Ambas técnicas no predicen la recaída en aproximadamente 30% de los pacientes.

2) PROPORCIONAR UNA METODOLOGÍA OBJETIVA de un estado de remisión más profundo.

3) ¿GUIAR LA INTERVENCIÓN TERAPÉUTICA?

a. PREDICCIÓN DE RESULTADOS más ajustada antes de definir la consolidación.

b. IDENTIFICAR RECAÍDA INMINENTE que guíe una intervención terapéutica temprana. Sugerencia: cambio de tratamiento si no logra RC-ERM neg o si se produce un aumento de la carga tumoral en las entidades en las que es posible realizar una medición de transcritos. Pero su evaluación como respuesta al tratamiento aun no cuenta con evidencia clínica para tomar decisiones terapéuticas.

c. Las similitudes en los resultados entre los pacientes con RC morfológica y ERM positiva y aquéllos con enfermedad activa en el momento del TCH apoyan el uso de algoritmos de tratamiento que utilizan ERM.

4) MONITOREO y VIGILANCIA más sólida después del trasplante.

5) ¿INTEGRAR ESTE OBJETIVO A TODOS LOS ENSAYOS CLÍNICOS?

a. Para utilizarlo como objetivo final para acelerar

pruebas y aprobación de medicamentos.

b. En la evaluación de un nuevo tratamiento, establecer retrospectivamente el umbral clínicamente relevante de ERM en el primer ensayo; para poder aplicarlo prospectivamente.

c. Seguimiento de los efectos del tratamiento (nuevos fármacos).

d. Como punto final sustituto en ensayos clínicos y

aprobación rápida de drogas nuevas.

Establecer remisión molecular, progresión molecular y recaída molecular.

La ERM es una medida importante, pero no excluyente, para predecir recaída en LMA. Aún sigue siendo necesario descubrir métodos para aquellos pacientes que, teniendo ERM negativa, recaen y conocer las razones de esta evolución.

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

Bibliografía

- Freireich E, Geham F. The effect of chemotherapy on acute leukemia in the human. *J Chronic Dis.* 1961 Dec;14:593-608.
- Yates JW, Wallace HJ Jr, Ellison RR, Holland JF. *Cancer Chemother Rep.* 1973 Nov-Dec;57(4):485-8.
- Paietta E. Consensus on MRD in AML? *Blood.* 2018;131:1265-1266.
- Cheson BD y col. Revised recommendations of the International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol.* 2003 Dec 15;21(24):4642.
- Mojca Jongen-Lavrencic. Molecular Minimal Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med.* 2018; 378:1189-1199.
- Meijer Rosa. CD34+ CD38- Leukemic Stem Cell frequency predict outcome in AML. *Leukemia.* December 2018;335 1.
- De Kouchkousky I, Abdul-Hay M. Acute Myeloid Leukemia: a comprehensive review and 2016 update. *Blood Cancer Journal.* 2016;Nº6:e441.
- Bullinger L, Döhner K, Döhner H. Genomics of Acute Myeloid Leukemia Diagnosis and Pathways *J Clin Oncol.* 2017 Mar 20;35(9):934-946
- Hourigan C, Karp J. Minimal Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia *Nat. Rev Clin Oncol.* 2013 Aug 10;(8):450-471.
- Döhner H, Estey R, Grinwade E y col. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood.* 2017;129:424-447.
- Percival ME and Estey E. Emerging treatments in Acute Myeloid Leukemia: Current Standards and Unmet Challenges. *Clin Adv Hematol Oncol.* 2017 Aug;15(8):632-642.
- Schuurhuis GJ, Heuser M, Freeman S et al. Minimal/measurable residual disease in AML: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party LeukemiaNet MRD. *Blood.* 2018;131(12):1275-1291.
- Vanderhoek M, Juckett MB, Perlman SB, Nickles RJ, Jeraj R. Evaluación temprana de la respuesta al tratamiento en pacientes con AML utilizando (18) FLT PET. *Leuk Res.* 2011;35(3):310-316.
- Terwijn M. y col. High Prognostic Impact of Flow Cytometric Minimal Residual Disease Detection in Acute Myeloid Leukemia: Data From the HOVON/SAKK. *Journal of Clinical Oncology.* 2013;31:3889-3897.
- Freeman S y col. Prognostic relevance of treatment response measured by flow cytometric residual disease detection in older patients with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol.* 2013;31(32):4123-4131.
- Ravandi F et al. Persistence of minimal residual disease assessed by multiparameter flow cytometry is highly prognostic in younger patients with acute myeloid leukemia. *Cancer.* 2017;123:426-435.
- Chen et al. Relation of clinical response and minimal residual disease and their prognostic impact on outcome in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol.* 2015;33(11):1258-64.
- Rubnitz JE y col. Minimal residual disease-directed therapy for childhood acute myeloid leukemia: results of the AML02 multicentre trial. *The Lancet.* 2010 June 01;(6)543-552.
- Araki D y col. Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation for Acute Myeloid Leukemia: Time to Move Toward a Minimal Residual Disease-Based Definition of Complete Remission? *J Clin Oncol.* 2016;34:329-336.
- Fuccisano F, Maurillo L, Del Principe MI et al. Implicaciones pronósticas y terapéuticas de la detección de la enfermedad residual mínima en la leucemia mieloide aguda. *Sangre.* 2012;119(2):332-341.

21. Zhou y col. Pre- and Post-Transplant Quantification of Measurable ("Minimal") Residual Disease via Multiparameter Flow Cytometry in Adult Acute Myeloid Leukemia. *Leukemia*. 2016 Jul;30(7):1456-1464.
22. Shah M. V. Early Post-Transplant Minimal Residual Disease Assessment Improves Risk Stratification in AML. *Biol Blood Marrow Transplantation*. 2017;23:S40 S41.
23. Liu Yin JA y col. Minimal residual disease monitoring by quantitative RT-PCR in core binding factor AML allows risk stratification and predicts relapse: results of the United Kingdom MRC AML-15 trial. *Blood*. 2012;120:2826-2835.
24. Willekens Ch y col. Prospective Long-Term Minimal Residual Disease Monitoring Using RQ-PCR In RUNX1-RUNX1T1-Positive Acute Myeloid Leukemia: Results Of The French CBF-2006 Trial. *Haematologica*. 2016;101:328-335.
25. Agrawal M. Minimal Residual Disease Monitoring in Acute Myeloid Leukemia (AML) with Translocation t(8;21)(q22;q22): Results of the AML Study Group (AMLSG). *Blood*. 2016;128:1207.
26. Jourdan E y col. Prospective evaluation of gene mutations and minimal residual disease in patients with core binding factor acute myeloid leukemia. For the French AML Intergrup. *Blood*. 2013;121:2213-2223.
27. Zhou Hong-Hu y col. MRD-directed risk stratification treatment may improve outcomes of t(8;21) AML in the first complete remission: results from the AML05 multicenter trial. *Blood*. 2013;121:4056-4062.
28. Pascha P. y col. Adding dasatinib to intensive treatment in core-binding factor acute myeloid leukemia-results of the AMLSG 11-08 trial. *Leukemia*. 2018;32:1621-1630.
29. Höllein A y col. Minimal residual disease (MRD) monitoring and mutational landscape in AML with RUNX1-RUNX1T1: a study on 134 patients. *Leukemia*. 2018 Oct;32(10):2270-2274.
30. Weisser M et al. Prognostic impact of RT-PCR-based quantification of WT1 gene expression during MRD monitoring of acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2005;19:1416-23.
31. Rossi G et al. Comparison between multiparameter flow cytometry and WT1-RNA quantification in monitoring minimal residual disease in acute myeloid leukemia without specific molecular targets. *Leuk Res*. 2012;36:401-6.
32. Miglino M et al. Nucleophosmin gene-based monitoring in de novo cytogenetically normal acute myeloid leukemia with nucleophosmin gene mutations: comparison with cytofluorimetric analysis and study of Wilms tumor gene 1 expression. *Leuk Lymphoma*. 2012;53:2214-7.
33. Schnittger S et al. Minimal residual disease levels assessed by NPM1 mutation-specific RQ-PCR provide important prognostic information in AML. *Blood*. 2009;114:2220-31.
34. Ivey A. Assessment of Minimal Residual Disease in Standard-Risk AML. *N Engl J Med*. 2016;374:422-33.
35. Krönke J y col. Monitoring of Minimal Residual Disease in NPM1-Mutated Acute Myeloid Leukemia: A Study From the German-Austrian Acute Myeloid Leukemia Study Group. *JCO*. 2011;19:2709-2716.
36. Shayegi N y col. The level of residual disease based on mutant NPM1 is an independent prognostic factor for relapse and survival in AML. *Blood*. 2013;122:83-92.
37. Lambert J. MRD assessed by WT1 and NPM1 transcript levels identifies distinct outcomes in AML patients and is influenced by gemtuzumab ozogamicin. *Oncotarget*. 2014;5:6280-6288.
38. Abdelhamid E et al. Minimal residual disease monitoring based on FLT3 internal tandem duplication in adult acute myeloid leukemia. *Leuk Res*. 2012;36:316-23.
39. Grunwald MR, Lin MT, Pratz KW, Gocke CD, Levis MJ. Tandem Duplication PCR (TD-PCR) Is a Novel Method of Detecting Minimal Residual Disease in FLT3/ITD AML and Is Highly Predictive of Relapse Risk Following Allogeneic Transplant. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*. 2012:Abstract 24.
40. Mojca Jongen-Lavrencic M, Grob, T, Francois Gy col. Prospective Molecular MRD Detection By NGS: A Powerful Independent Predictor for Relapse and Survival in Adults with Newly Diagnosed AML. *Blood*. 2017;130:LBA-5.



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.

“El nicho mieloproliferativo... el campo de batalla”

“The myeloproliferative niche... the battlefield”

Castro Ríos M.

*Centro de Hematología Clínica de San Isidro
Subcomisión de Mieloproliferativos Ph Negativos*

miguelcastrorios@gmail.com



**MELOPROLIFERATIVOS:
INCÓGNITAS
SIN DEVELAR**

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 193-199
Octubre 2019

Palabras claves: nicho de médula ósea
mieloproliferativo,
microambiente,
células estromales mesenquimáticas,
red neural simpática.

Keywords: myeloproliferative bone marrow niche,
microenvironment,
mesenchymal stromal cells,
sympathetic neural network.

Resumen

Diversos trastornos hematológicos y no hematológicos están asociados con el aumento de la fibrosis de médula ósea (FMO), incluyendo a las mielodisplasias y neoplasias mieloproliferativas, siendo la mielofibrosis primaria (MFP) el ejemplo prototípico del desarrollo progresivo de la FMO e insuficiencia hematopoyética.

La MFP es una neoplasia mieloproliferativa (NMP) *BCR-ABL* negativa, trastorno clonal de la hematopoyesis, originada en la célula madre hematopoyética (CMH), donde la mayoría de estos pacientes presentan mutaciones líderes (“driver”) que activan la señal JAK-STAT, un 60% con la mutación JAK-2V617F, 30% con la mutación CALR y 8% con la mutación MPL.

Los avances en el estudio del nicho de MO han comprobado que se trata de una colección de células regulatorias complejas y multifacéticas, con ro-

les importantes en la formación de la MO y el mantenimiento de la función de la CMH que regula la producción de células sanguíneas.

En este sincitio, las células estromales mesenquimáticas (CESTM) constituyen una población de células encontradas alrededor de las arteriolas y vasos sinusoidales en directo contacto con las células endoteliales (CE) y también localizadas en el nicho osteal adyacente al hueso.

La localización perivascular de las CMH realza la importancia de las CESTM en el área perivascular como componentes cruciales del nicho de MO con una significativa función de soporte de la CMH.

Dentro de la región perivascular, una gran proporción de CEST expresan niveles elevados de *CXCL12*, quemoquina que juega un rol crucial en el mantenimiento de la función de la CMH y se han descrito tres poblaciones principales de CESTM, caracterizadas por alta expresión de *CXCL12*: 1) re-

ticulares abundantes en *CXCL12* (CAR CELLS), 2) células nestina⁺ (CESTNes⁺) y 3) CEST con receptor leptina positiva (CEST LepR⁺).

La evidencia sugiere que la desregulación de la interacción de las CMH y las células madres progenitoras (CMP) con las distintas poblaciones de CESTM, tanto en enfermedades malignas como procesos inflamatorios, interrumpe el proceso estrechamente regulado de la hematopoyesis en el nicho de MO, favoreciendo la transformación secretoria de un grupo de CESTM que disminuye la capacidad de soportar a la hematopoyesis. A pesar del avance en comprender la patogénesis de las enfermedades mieloides malignas, todavía el mecanismo de producción de la fibrosis está pobremente entendido. El descubrimiento reciente de CEST Gli1⁺ y LepR⁺, células del nicho hematopoyético como productoras de fibrosis, han abierto un amplio campo de investigación de los mecanismos celulares y moleculares de la transformación fibrótica.

Existen evidencias de la regulación neuronal simpática del nicho de MO. CESTM Nes⁺ están inervadas por fibras nerviosas simpáticas y son reguladoras importantes de la CMH normal.

En las NMP estas células están fuertemente reducidas por el daño neural y glial con subsiguiente apoptosis de las CEST Nes⁺ gatillado por la CMH mutante

Tratamiento con mirabegrón, una droga β -3-simpatomimética, restaura el número de CESTM Nes⁺ y corrige la trombocitosis, la neutrofilia y la FMO del ratón “NMP-JAK2V617F driven”, con reducción del número de progenitores mutantes en MO y sangre periférica.

Esta evidencia sugiere que la MFP no es sólo una enfermedad de la CMH y de sus progenitores, sino que comprende a todo el nicho.

Una mejor comprensión del rol del MA, de las CESTM y de la red neural acelerará el diseño de terapéuticas sinérgicas eficaces en el tratamiento para lograr la remisión de las NMP en el futuro.

Abstract

A number of hematological and non-hematological disorders are associated with increased bone marrow (BM) fibrosis, including myelodysplastic (MDS) and malignant myeloproliferative (MPNs) diseases.

Primary myelofibrosis (PMF) is the prototypical ex-

ample of progressive development of BM fibrosis and progressive evolution to BM insufficiency.

PMF refers to *BCR-ABL1*-negative MPN, is a clonal disorder of hematopoiesis arising in hematopoietic stem cell (HSC). The majority of patients with PMF carry “driver” mutations that activate JAK-STAT signaling, 60% harbor the JAK2V617 mutation, approximately 30% carry a calreticulin (CALR) mutation and 8% carry a myeloproliferative leukemia virus oncogene (MPL) mutation.

The BM niche is a complex and multifaceted collection of regulatory cell types, with important roles in BM formation and the maintenance of HSC function and blood production regulation. Several stromal cell populations are implicated in the regulation of hematopoiesis, and recent studies have highlighted the role of specific stromal cell populations in regulating hematopoietic progenitor populations.

BM mesenchymal stromal cells (MSCs) constitute a population of cells found around arterioles and sinusoid vessels, in direct contact with endothelial cells and also located in the endosteal niche adjacent to the bone.

The perivascular location of HSCs highlights the importance of stromal cells in the perivascular area as crucial BM niche components with a significant HSC-supporting function. Within the perivascular region, a large proportion of stromal cells express high levels of *CXCL12*, chemokine which plays a crucial role in maintaining HSC function. So far, three MSC populations characterized by high *CXCL12* expression have been identified: 1) *CXCL12*-abundant reticular (CAR) cells, 2) nestin⁺ (Nes⁺ MSCs) and 3) leptin receptor (LepR⁺ MSCs). Evidence suggests that dysregulation of the interaction between HSCs and haematopoietic progenitor cells (HPCs) and distinct stromal cell populations, either in malignant haematopoietic diseases or in inflammatory processes, disrupts the tightly regulated process of haematopoiesis in the BM niche and favors a secretory phenotype of MSC with decreased haematopoiesis-supporting capacity.

Recent studies using different models of hematopoietic malignancies associated with BM fibrosis were able to mechanistically elucidate how malignant hematopoietic cells and proinflammatory cytokines activate MSCs in the BM, support their fibrotic and secretory activity and influence their reduced hematopoiesis-supporting capacity.

Despite our advanced understanding of the molecular pathogenesis of malignant myeloid diseases, the stepwise pathogenesis of BM fibrosis is poorly understood. The recent discovery of Gli1+ and leptin receptor (LepR)+ stromal cells, which are cells of the HSC niche, as fibrosis driving cells, opens new avenues for investigation of the molecular and cellular mechanisms of fibrotic transformation.

There is evidence for the sympathetic neuronal regulation of the hematopoietic niche. Nestin-positive mesenchymal stem cells (Nes+ MSCs) within the BM niche are innervated by sympathetic nerve fibers and are important in regulating normal HSC, and these cells are strongly reduced in MPN and caused by early glial and sympathetic nerve damage and subsequent apoptosis of NES+ MSCs triggered by the mutant hematopoietic cells.

Treatment with mirabegron a β -3-sympathomimetic drug restored Nestin+ MSCs numbers and also showed correction of thrombocytosis, neutrophilia and BM fibrosis in "JAK2V617 driven MPN" mice and efficiently reduced mutant hematopoietic progenitor numbers in BM and peripheral blood.

This evidence suggests that PMF is not only a disease of the HSC and hematopoietic progenitor cells, but is rather a disease of the entire HSC niche.

An enhanced understanding of the role of the microenvironment, the mesenchymal stromal cells and neural network will accelerate the design of synergistic therapeutic approaches moving to the cure of the myeloproliferative diseases.

Introducción

El descubrimiento de un espectro de lesiones genómicas somáticas adquiridas en el clon maligno de las neoplasias mieloproliferativas (NMP) clásicas Ph negativas, como las mutaciones líderes (JAK2, CALR, MPL) y mutaciones cooperadoras (*ASXL1*, *IDH1/2*, *EZH2*, *SRSF2*, *DNMT3* y otras) ha permitido reconocer las variables que dirigen la mieloproliferación, determinando el genotipo clínico y promoviendo la progresión de la enfermedad a la fibrosis (MF) de médula ósea (MO)⁽¹⁾.

Aunque el análisis genético provee importante información diagnóstica y pronóstica, se sabe que otros factores, como la edad, la inflamación y el microambiente (MA) de la MO, ejercen una influencia significativa sobre la dinámica del clon neoplásico⁽⁸⁾.

Se describió que mutaciones genéticas en el MA como la activación Notch defectuosa y la ablación de genes del receptor gamma del ácido retinoico y retinoblastoma pueden dirigir el proceso maligno^(17,18).

Nicho medular

Se conoce que el nicho medular es un tejido complejo donde conviven células regulatorias multifacéticas que comprenden a las células madres hematopoyéticas (CMH), las células estromales mesenquimáticas (CESTM), los osteoblastos, la célula de Schwan, las fibras simpáticas y el endotelio de las distintas estructuras vasculares arteriolares y sinusoidales, que se comportan como un sincitio.

Cuando aparece en el nicho la célula mutada, su actividad inflamatoria se retroalimenta a través de citoquinas (CK) y quemoquinas (QK) que promueven la fibrosis alterando el mantenimiento de la función y producción de la CMH normal, modificando la formación ósea y llevando finalmente a la MF y fallo medular, círculo vicioso difícil de romper, incluso con la combinación de muchos blancos terapéuticos, demostrando que todas las células del nicho colaboran en el daño y no sólo la célula mutada^(1a,2). A pesar de los avances logrados en el conocimiento de las mutaciones de la CMH, los mecanismos específicos que llevan a la fibrosis ha permanecido oscuros por años y es menos entendido que el desarrollo de fibrosis en órganos sólidos⁽²⁾.

Sabemos de la reversibilidad de la fibrosis en LMC, con la inhibición del BCR/ABL, o en MFP, con el trasplante alogénico de células madres, y que los avances terapéuticos potenciales para la MFP se pueden dividir en dos categorías: 1) la erradicación del clon maligno y 2) el hacer blanco en los mecanismos de fibrosis de MO.

Células estromales mesenquimáticas

Ha cobrado mucha importancia en la hematopoyesis medular el rol de las CESTM que constituyen una población de células ubicadas alrededor de las arteriolas y vasos sinusoidales, en contacto directo con células endoteliales (CE) y otras localizadas en el nicho endostial adyacente al hueso, responsables del soporte y regulación del crecimiento de CMH a través de la producción de G-CSF, TPO y la quemoquina *CXCL12*^(3,4).

Esta región perivascular con CESTM con altos niveles de *CXCL12* juega un rol esencial en el manteni-

miento de la función de las CMH y se reconocen tres poblaciones: 1) células reticulares ricas en CXCL12 (CAR CELS), 2) CEST nestina⁺ (CNEST⁺) y 3) CESTM con receptor leptina (C-LEPR⁺)^(2,3).

Las NG2⁺LepR⁺Nes^{dim} símil pericitos tienen localización principalmente periarteriolar y cercanas a la superficie endostial, mientras que las NG2⁺LepR⁺Nes^{bright} son más perisinusoidales, localizadas en la cavidad central de MO lejos del endostio.

Las CESTM perivascuales están directamente comprometidas en el mantenimiento de la CMH en el nicho de MO^(5,5a).

CESTM subendoteliales expresas de MCAM/CD146 con potencial osteogénico (células progenitoras auto-renovables) y productoras mayores de *ANGPT1* (molécula central del nicho hemopoético) están comprometidas en el remodelamiento vascular y la expansión de las células osteolineales que aumentan a la vez el número de CMH, mientras que su ablación resulta en la pérdida de las CMH en MO y el desarrollo de hematopoyesis extramedular^(2,3).

También ha sido demostrado que la diferenciación de las líneas osteoblásticas (COB) expresan factores importantes para la función hemopoética, incluyendo *CXCL12*, SCF (c-KIT ligando) y angiopoyetina (*ANGPT1*), que intervienen en la formación de proteínas de la matriz extracelular como la osteocalcina, colágeno 1 y osteopontina⁽²⁾.

Células estromales GLI 1⁺ y LepR⁺

En las NMP las CESTM se transforman, adquieren un fenotipo secretor con remodelamiento de la matriz extracelular y pérdida de su capacidad de mantener la hematopoyesis, y ha sido de gran importancia el descubrimiento de una población de CESTM específicas que actúan sobre el clon maligno pero también sobre la transformación y progresión de la fibrosis, como las CESTM Gli 1⁺ y LepR⁺, progenitores de miofibroblastos en la MFMO y también responsables de la fibrosis de múltiples órganos^(2-4,9). En modelos murinos de MFMO/MFP, las CESTM Gli 1⁺ residen en su mayoría en el lecho osteal y una pequeña fracción en los sinusoides y arteriolas. Reclutadas desde el nicho osteal y perivascular, son activadas y diferenciadas a miofibroblastos llevando a la fibrosis⁽¹²⁾.

En modelos murinos de fibrosis inducida por trombopoyetina (TPO), con marcada remodelación que

lleva a la hematopoyesis extramedular y aumento significativo del peso esplénico, se observó que la ablación de estas células estromales Gli 1⁺ mejora completamente la MF con ausencia de fibrosis de reticulina en MO, con normalización del tamaño esplénico y reducción de la osteoesclerosis, previniendo el fallo de MO^(2,3).

Megacariocitos displásicos y CXCL4

El clon NMP produce la mutación de megacariocitos (MK) displásicos que secretan *CXCL4* y otras CK fibrogénicas. La liberación de estas moléculas pro-inflamatorias altera la sensibilidad del microambiente de médula ósea (MAMO), afectando una población estromal de C Nestina⁺ que, activadas por *CXCL4*, activan las CGLI1⁺ con transdiferenciación a miofibroblastos, perdiendo su capacidad de soportar la hematopoyesis (*CXCL12*, SCF), adquiriendo un fenotipo secretorio y de remodelación de la matriz extracelular.

En la progresión de la fibrosis, la trombina y el colágeno contribuyen a la activación del metabolismo del ácido araquidónico, que transforma a las CESTM en inflamatorias metabólicamente activas con pérdida de su capacidad de soporte-hemopoético.

A través de estos cambios, las CGLI 1⁺ y LepR⁺ adquieren un fenotipo anormal, llevando a la activación, aumento de la proliferación y migración al espacio medular, donde se diferencia a miofibroblastos y depositan colágeno y fibras de reticulina.

Otras vías, como la señalización PDGF, están comprometidas en la transformación fibrótica y pueden ser blanco de inhibidores específicos, como el imatinib, y se ha demostrado que el PDGF puede activar Gli 1⁺ a través de señales no canónicas.

Experimentos de secuenciación de ARN en modelos murinos de MFP indican que los genes asociados al MK están significativamente sobrerregulados, y se ha identificado que el *CXCL4* es un activador potencial de células Gli 1⁺.

La expresión de genes blanco de la vía *hedgehog* (Hh) en las NMP están significativamente aumentados en los granulocitos, como así también en las Gli 1⁺, pero todavía no se conoce la importancia de la vía Hh y su contribución a la MF⁽¹⁴⁾.

Inhibición de las células estromales GLI1⁺

Hay una fuerte evidencia para terapias blanco

de proteína Gli en MF, a través de monoterapia (GANT61), como con terapias combinadas con inhibidores JAK2 (JAK2i) + inhibidores de la vía **hedgehog** (Hhi).

GANT61 es una molécula pequeña, inhibidora de la proteína Gli y capaz de inhibir directamente la expansión de células Gli 1⁺ y su diferenciación a miofibroblastos, atenuando la severidad de la MF, tanto en modelos murinos como humanos con CESTM Gli 1⁺.

JAK2i combinados con Hhi actúan también reduciendo el clon neoplásico. Se sabe que la vía de señalización Hh regula el destino de las CESTM y está actualmente implicada en un rol crítico para el desarrollo de fibrosis en órganos sólidos y cáncer. Sin embargo, sólo inhibidores suaves (SMOi), que inhiben la señal canónica Hh ligando dependiente, han sido testeados con éxito variado, probablemente relacionado a que las proteínas Gli de las células Gli 1⁺ pueden ser activadas por vías Hh no canónicas (PI3K-AKT, TGFβ, PDGF)⁽¹⁰⁾.

Las plaquetas y MK atípicos de las NMP producen *CXCL4* de los α-gránulos, que activa a la CGL1⁺ en el nicho, que a su vez liberan *CXCL4* e inducen la migración y diferenciación a miofibroblastos, demostrando que éste es un factor quimotáctico potente, contribuyendo a la fibrosis, induciendo la reprogramación metabólica e infra-regulación de *CXCL12* y actuando en la diferenciación osteogénica precediendo la osteoesclerosis.

Otra población de células estromales (CEST) puede contribuir directamente a la MF a través de su diferenciación a miofibroblastos de las células LepR⁺⁽⁶⁾. En la función normal de la MO, las CEST LepR⁺ producen *CXCL12*, un factor de soporte importante que es crucial para la supervivencia y regulación de CMH⁽⁸⁾. En la fibrosis de MO estas células se expanden significativamente y diferencian a través de la activación de la vía PDGFRα, una vía muy importante en la fibrosis⁽⁶⁾.

Inervación del nicho por el sistema nervioso autónomo

Las CEST Nes⁺ son inervadas por fibras nerviosas simpáticas que regulan las CMH normales. Mendez Ferrer y col. han descrito que el tráfico de las CMH está regulado por la liberación de noradrenalina vía el sistema nervioso simpático, transmitido al nicho de CEST por el receptor adrenérgico B₃, resultando

en la reducción del factor de transcripción Sp1 e infra-regulación de *CXCL12*⁽⁷⁾.

En las NMP, la IL-1β producida por CMH mutantes genera en un daño neuropático que depleciona las células Schwan, que afecta la actividad de las CESTM perivasculares alterando la función del nicho y acelerando la progresión de la NMP^(7,15).

Marianovich y col. han demostrado recientemente cómo el nicho de MO en la vejez se asocia con pérdida de las fibras del sistema nervioso simpático, sugiriendo que la remodelación asociada a la denervación lleva a la CMH envejecida⁽⁸⁾.

Si bien no están directamente comprometidas en el depósito de fibrosis, las CEST Nes⁺ también están afectadas por el MA proinflamatorio durante la MFP⁽⁹⁾.

En la presencia del clon NMP hemopoyético, las CEST Nes⁺ van a apoptosis y alteran su actividad, demostrada por una infra-regulación de las CK de soporte hematopoyético, tales como la *CXCL12* y SCF alterando el N-MO.

Esto confirma la idea de un nicho maligno que se retroalimenta, favoreciendo la progresión de la enfermedad por la producción de CK aberrantes y programas de diferenciación desreguladas.

Terapias blanco en mielofibrosis

Sabemos que la mayoría de los pacientes con MF tiene la mutación JAK2 con ganancia de función que lleva a la activación constitutiva de la vía JAK/STAT

El uso de los inhibidores de JAK, como el ruxolitinib (RX), proveen una reducción limitada de la carga alélica y sólo bloquea la actividad de CK, más que actuar sobre la proliferación clonal que dirige primariamente el trastorno.

Por ese motivo necesitamos una combinación de drogas que actúen sobre la causa de la mutación líder y sobre las células del MA que estimulan a las células productoras de fibrosis.

La administración de imatinib, que bloquea la actividad de diversas TK incluyendo la PDGFRα, o la delección condicional del gen *Pdgfra* (receptor α del PDGF) de CEST LepR⁺, mejoran la fibrosis, indicando que la vía PDGFRα juega un rol importante en la fibrosis no sólo de órganos sólidos, sino también en la MF⁽⁴⁾.

Varia drogas inmunomoduladoras, como la talidomida, lenalidomida, inhibidores de proteosoma

(bortezomib) y agentes blanco en VEGF (sunitinib, bevacizumab), han sido testeadas para modificar el MA, con resultados diversos, progreso obstaculizado por los efectos secundarios de las mismas⁽¹⁰⁾.

CK inflamatorias y fibrogénicas que llevan a la transformación fibrótica y remodelación del nicho de MO en el ratón, como la PDGF y TGF- β , pueden ser bloqueadas solas o en combinación con RX, y son áreas actuales activas de investigación.

El compuesto antifibrótico pirfenidona, aprobado para fibrosis pulmonar idiopática y que inhibe las señales TGF- β y p38, fue probado en MF sin éxito. La administración de simtuzumab intentando inhibir el depósito de matriz extracelular al interferir en el entrecruzamiento de las fibras de elastina y colágeno, ha tenido efecto limitado en MF severa.

Agentes hipometilantes, como la decitabina, han demostrado un aumento de la sobrevida global en MFP de alto riesgo y se necesitan tratamientos com-

binados para mejorar la evolución⁽¹¹⁾.

Hacer blanco sólo en CK inflamatorias y fibrogénicas en MFMO (pentraxina) no es suficiente y se requiere hacer blanco en múltiples vías que actúen sobre la interacción entre la CEST NMP, CK inflamatorias, MK displásicos y células productoras de fibrosis⁽¹²⁾.

La identificación de las células que llevan al desarrollo de la MFMO, como la inhibición de la diferenciación aberrante de las CESTM, con sus consecuencias deletéreas sobre la hematopoyesis y diferenciación a células productoras de fibrosis, y la importancia del rol de la regulación neuro-CMH han permitido un mejor conocimiento de la fisiopatogenia del desarrollo de MF, con el consiguiente desarrollo de nuevos agentes terapéuticos como los β -3 adrenérgicos, que abren un nuevo horizonte en el control de estas neoplasias inflamatorias^(15,16).

Conflictos de interés: El autor declara no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

1. Tefferi A, Thiele J, Orazi A et al. Proposals and rationale for revision of the WHO diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia and primary myelofibrosis: recommendations from an ad hoc international expert panel. *Blood*. 2007;110:1092-97.
- 1a. Schmitt-graef AH, Nitschke R, Zeiser R. The hematopoietic niche in myeloproliferative neoplasms. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:347720.
2. Hélène F.E. Gleitz Hélène FE, Kramann R, Schneider RK. Understanding deregulated cellular and molecular dynamics in the hematopoietic stem cell niche to develop novel therapeutics for bone marrow fibrosis. *J Pathol*. 2018;245:138-146.
3. Schneider RK, Mullaly A, Dugourd A et al. Gli+ mesenchymal stromal cells are a key driver of bone marrow fibrosis and an important cellular therapeutic target. *Cell Stem Cell*. 2017;20:785-800.
4. Kramann R, Schneider RK, DiRocco DP, Machado F, Fleig S, Bondzie PA, Henderson JM, Ebert BL, Humphreys BD. Perivascular Gli1+ progenitors are key contributors to injury-induced organ fibrosis. *Cell Stem Cell*. 2015;16:51-66.
5. Ding L, Saunders TL, Enikolopov G y col. Endothelial and perivascular cells maintain hematopoietic stem cells. *Nature*. 2012;481: 457-462.
- 5a. Kuniacki Y, Bruns I, Scheirrmann C, et al. Arteriolar niches maintain hematopoietic stem cell quiescence. *Nature* 2013;15:154-168.
6. Decker M, Martinez-Morente L, Wang G y col. Leptin receptor expressing bone marrow stromal cells are myofibroblasts in primary myelofibrosis. *Nat Cell Biol* 2017; 19:2721-2730.
7. Arranz L, Sanchez-Aguilera A, Martin-Perez D et al. Neuropathy of haematopoietic stem cell niche is essential for myeloproliferative neoplasms. *Nature*. 2014;512:78-80.
8. Maryanovich M, Zahalka AH, Pierce H et al. Adrenergic nerve degeneration in bone marrow drives aging of the hematopoietic stem cell niche. *Nat Med* 2018;24:782-91
9. Hélène FE Gleitz, Jessica E Pritchard, Rafael Kramann, Rebekka K Schneider. Fibrosis driving myofibroblast precursors in MPN and new therapeutic pathways. *HemaSphere EHA Educational book* 2019.
10. Bhagwat N, Keller MD, Rampal RK et al. Improved efficacy of combination of JAK2 and Hedgehog inhibitors in myelofibrosis. *Blood*. 2013;122:666.

11. Badar T, Kantarjian HM, Ravandi F y col. Therapeutic benefit of decitabine, a hypomethylating agent, in patients with high risk primary myelofibrosis and myeloproliferative neoplasm in accelerated or blastic/acute myeloid leukemia phase. *Leuk Res.* 2015;39:950-956.
12. Aberger F, Ruiz IAA. Context-dependent signal integration by the GLI code: the oncogenic load, pathways, modifiers and implications for cancer therapy. *Seminars in cell & developmental biology.* 2014; 33:93-104.
13. Rambaldi A, Barbui T, Barosi G. From palliation to epigenetic therapy in myelofibrosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2008; 2008:83-91.
14. Asaki K, Gotlib JR, Mesa RA et al. Phase II evaluation of IPI-926, an oral Hedgehog inhibitor in patients with myelofibrosis. *Leuk Lymphoma.* 2015; 56:2092-97.
15. Le Bousse-Kerdiles MC, Marytre MC. Dual implication of fibrogenic cytokines in the pathogenesis of fibrosis and myeloproliferation in myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Ann Hematol.* 1999;78:437-44.
16. Drexler B, Passweg JR, Tzankov A et al. The sympathomimetic agonist mirabegron did not lower JAK2-V617F allele burden, but restored nestin-positive cells and reduced reticulin fibrosis in patients with myeloproliferative neoplasms: results of phase 2 study SAKK33/14. *Hematologica.* 2019;104: 710-16.
17. Kim YW, Koo BK, Jeong HW, Yoon MJ, Song R, Shin J, Jeong DC, Kim SH, Kong YY. Defective Notch activation in microenvironment leads to myeloproliferative disease. *Blood.* 2008 Dec 1;112(12):4628-38.
18. Walkley CR, Olsen GH, Dworkin S et al. A micro-environment-induced myeloproliferative neoplasm caused by retinoic acid receptor gamma deficiency. *Cell* 2007;129:1097-1110.



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.

Plaquetas: entre el sangrado y la trombosis en mieloproliferativos

Platelets at the crossroad between bleeding and thrombosis in chronic myeloproliferative neoplasms

Heller PG

¹División Hematología Investigación, Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari, Universidad de Buenos Aires.

²CONICET, UBA, Instituto de Investigaciones Médicas (IDIM).

paulaheller@hotmail.com



**MIELOPROLIFERATIVOS:
INCÓGNITAS
SIN DEVELAR**

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 200-204
Octubre 2019

Palabras claves: plaquetas,
neoplasias mieloproliferativas
crónicas,
trombosis.

Keywords: platelets,
chronic myeloproliferative
neoplasms,
thrombosis.

Las complicaciones trombóticas y hemorrágicas constituyen la causa más frecuente de morbimortalidad en las neoplasias mieloproliferativas crónicas (NMP). La frecuencia de trombosis oscila entre 15-30% en la trombocitemia esencial (TE), 15-35% en la policitemia vera (PV) y 10-15% en la mielofibrosis primaria (MF), siendo los eventos arteriales más prevalentes que los venosos^(1,2). Paradójicamente, los pacientes pueden presentar también sangrado, con una frecuencia entre 7-10% y, en algunos casos, puede haber coexistencia de eventos trombóticos y hemorrágicos. Además, la formación de agregados plaquetarios en las condiciones de estrés de cizallamiento alto de la microcirculación da origen a las manifestaciones características de obstrucción de la microcirculación, observadas típicamente pero no en forma exclusiva en TE⁽³⁾. Las plaquetas cumplen un rol central en la patogenia de las complicaciones

tanto trombóticas como hemorrágicas⁽⁴⁾, como se detalla a continuación.

Rol de las plaquetas en el estado protrombótico de las NMP

Existen amplias evidencias de que las plaquetas de los pacientes con NMP circulan en estado basal activado, reflejado por la presencia de marcadores de activación plaquetaria, como la expresión de P-selectina en la superficie plaquetaria o la detección del fragmento soluble de la misma en el plasma, el aumento de los niveles plasmáticos de componentes de los gránulos alfa plaquetarios, como la β -tromboglobulina o el factor plaquetario 4 y el aumento de tromboxano B2 urinario, reflejo del aumento de la síntesis de tromboxano A2⁽³⁻⁵⁾. Esta activación basal es inducida por múltiples factores, incluyendo la presencia de anomalías plaquetarias intrínsecas,

producto de la alteración clonal propia de los mielo-proliferativos, la interacción de la plaqueta con leucocitos y endotelio activados y factores solubles que promueven la activación plaquetaria.

Las plaquetas activadas promueven el estado hipercoagulable a través de diversos mecanismos⁽³⁻⁵⁾. Por un lado, la expresión de moléculas de adhesión provenientes de los gránulos alfa, como la P-selectina, facilita su interacción con neutrófilos y monocitos, lo cual lleva a la formación de agregados plaqueta-leucocito fomentando en forma recíproca las respuestas funcionales de ambos tipos celulares. El CD40L, otra molécula de adhesión proveniente de los gránulos alfa, desencadena la interacción de la plaqueta con la célula endotelial. Concomitante a la activación plaquetaria, el endotelio también se encuentra activado, lo cual promueve su potencial protrombótico y su capacidad de interactuar con plaquetas y leucocitos. Por otra parte, las plaquetas activadas ofrecen un sustrato procoagulante propicio para que se lleven a cabo reacciones de coagulación mediante la exposición de fosfatidilserina, la expresión de factor tisular y el aporte de factores de coagulación, todo lo cual contribuye al aumento en la generación de trombina demostrado en estos pacientes. Además, existe una mayor generación de micropartículas plaquetarias, ricas en P-selectina y factor tisular que amplifican el estado hipercoagulable. Un factor adicional está representado por la presencia de plaquetas jóvenes, que son de mayor tamaño y tienen un mayor potencial hemostático^(4,5).

Coexistencia de activación y disfunción plaquetaria en NMP

A pesar de la presencia de activación basal, la evaluación de la función plaquetaria en respuesta a agonistas ha revelado resultados discrepantes. Por un lado es bien conocido que existen defectos en la agregación plaquetaria en pacientes con TE, particularmente disminución de la respuesta al ADP y a la epinefrina⁽⁶⁾, aunque trabajos recientes sugieren que estos defectos constituyen en parte artefactos técnicos inducidos por el efecto inhibitorio del plasma utilizado para ajustar el recuento plaquetario para el estudio de agregación^(7,8). Por otra parte, si bien un estudio mostró un aumento de respuestas plaquetarias evaluadas por citometría de flujo, como la expresión de P-selectina, inducida por agonistas clásicos como el TRAP y el ADP⁽⁹⁾, otros dos tra-

bajos mostraron un defecto en estas respuestas^(10,11). La disfunción plaquetaria podría ser secundaria a la disminución de gránulos que son espontáneamente liberados por las plaquetas activadas, generando un estado de pool de depósito. Esto explicaría la coexistencia de activación y disfunción plaquetaria, siendo uno de los motivos responsables de la aparición paradójica de trombosis y sangrado en los pacientes. Otro de los factores responsables del sangrado radica en el consumo de multímeros de factor von Willebrand de alto peso molecular por adsorción de los mismos a la superficie plaquetaria con la consiguiente deficiencia funcional que induce un síndrome de von Willebrand adquirido⁽³⁾.

Factores de riesgo trombótico

Los principales factores de riesgo trombótico en NMP son la edad mayor a 60 años y el antecedente de trombosis previo^(1,2). De acuerdo a la presencia o no de estos factores, los pacientes se estratifican en grupos de riesgo trombótico alto o bajo, lo cual es de utilidad para guiar la indicación de tratamiento citorreductor. Más recientemente, la escala IPSET-trombosis, que toma en cuenta la mutación JAK2V617F y los factores de riesgo cardiovascular, ha sido propuesta para definir mejor el riesgo trombótico en TE, si bien la aplicación de esta escala en la práctica clínica no ha sido establecida⁽¹⁾. La presencia de la mutación JAK2V617F incrementa el riesgo trombótico aproximadamente al doble⁽¹²⁾, mientras que los pacientes portadores de la mutación CALR y los negativos para las tres mutaciones (JAK2/CALR/MPN) o triple-negativos se encuentran en menor riesgo de desarrollar eventos vasculares.

Rol de la trombocitosis en el riesgo trombótico y hemorrágico

Si bien se acepta que la normalización de las cifras de plaquetas mediante el tratamiento citorreductor atenúa la predisposición trombótica, no existe una correlación entre el grado de trombocitosis y el riesgo trombótico. Más aun, la trombocitosis extrema ($>1000-1500 \times 10^9/L$), en ausencia de leucocitosis, se asocia a un menor riesgo de trombosis⁽¹³⁾. De hecho, estos pacientes son especialmente susceptibles a presentar sangrado, fundamentalmente debido al consumo de factor von Willebrand de alto peso molecular. Por este motivo, las recomendaciones terapéuticas actuales sugieren que el objetivo tera-

péutico es reducir el recuento plaquetario a $< 400 \times 10^9/L^{(1)}$.

Relación entre los marcadores de activación plaquetaria y el perfil mutacional

Se ha descripto que los pacientes con TE JAK2-positivos presentan mayor activación plaquetaria, como lo refleja la presencia de niveles mayores de marcadores de activación, como P-selectina, CD40L, agregados plaqueta-neutrófilo y micropartículas plaquetarias⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. Este hecho es uno de los factores que contribuye al mayor riesgo trombótico que presentan los pacientes JAK2-positivos. Además, los pacientes JAK2-positivos presentan mayores recuentos de leucocitos y menores recuentos de plaquetas que los positivos para CALR o los triple-negativos, lo cual como se detalló anteriormente, también se asocia a mayor frecuencia de eventos vasculares.

Utilidad de los marcadores de activación plaquetaria como predictores de trombosis

Si bien en un estudio se halló relación entre la presencia de marcadores de activación plaquetaria, como la P-selectina soluble, y la historia de trombosis previa, en otros trabajos no se encontró la misma asociación, por lo cual el valor de estos marcadores como predictores de trombosis permanece incierto^(9,15). La complejidad de los mecanismos que intervienen en el riesgo trombótico de las NMP, incluyendo la activación endotelial, leucocitaria y del sistema de coagulación, dificulta la identificación de un solo marcador como predictor trombótico. Sería de interés evaluar en una misma cohorte y en forma prospectiva marcadores de activación plaquetaria junto con marcadores de activación endotelial, leucocitaria y de coagulación para definir este aspecto.

Relación entre las pruebas de función plaquetaria y hemorragia

Si bien las alteraciones de la agregación plaquetaria son muy frecuentes en la TE, el estudio de función plaquetaria no es útil para predecir el desarrollo de complicaciones hemorrágicas. La aparición de éstas se relaciona con el uso de aspirina, la edad y la presencia de enfermedad de von Willebrand adquirida⁽¹⁷⁾. Este riesgo aumenta en caso de cirugía o procedimientos invasivos.

Antiagregantes plaquetarios

La eficacia de la aspirina en la prevención de trombosis en NMP refleja la importancia de la activación plaquetaria en este contexto. Las guías actuales recomiendan el uso de aspirina en bajas dosis (80-100 mg diarios) en todos los pacientes con PV, los pacientes con TE de alto riesgo y aquéllos con TE de bajo riesgo positivos para la mutación JAK2V617F⁽¹⁾. Estas recomendaciones son válidas siempre y cuando no exista contraindicación para el uso de aspirina. Por otra parte, la aspirina no ha demostrado beneficio en la prevención de trombosis en los pacientes de bajo riesgo CALR-positivos y, por el contrario, podría aumentar el sangrado en este grupo⁽¹⁸⁾. En relación a la trombocitosis extrema, se sugiere evitar la aspirina en pacientes con recuento de plaquetas $>1000-1500 \times 10^9/L$, por el mayor riesgo de sangrado asociado a estos recuentos. Alternativamente, recomendaciones de expertos sugieren que puede evaluarse la actividad funcional del factor von Willebrand y evitar la aspirina en presencia de un valor de cofactor de ristocetina $<30\%^{(19)}$. La aspirina también ha demostrado disminuir el riesgo de recurrencia trombótica luego de un episodio de trombosis arterial, e incluso de trombosis venosa. Sin embargo, la tasa de recurrencia permanece elevada a pesar de la antiagregación y/o anticoagulación, siendo de fundamental importancia el estricto tratamiento citorreductor en estos casos. En casos de riesgo trombótico muy alto, los expertos sugieren la posible utilidad de utilizar aspirina cada 12 hs, dada la posibilidad de resistencia asociada al alto recambio plaquetario y a la persistencia de la biosíntesis de tromboxano⁽²⁰⁾. El rol de otros antiagregantes plaquetarios en NMP no ha sido formalmente evaluado.

Plaquetas e inflamación

Además de su rol clásico en la hemostasia, la plaqueta participa de la inmunidad innata y constituye un sensor y mediador de inflamación a través de su interacción con otras células inmunes y la liberación de mediadores proinflamatorios⁽²¹⁾. Esta propiedad de la plaqueta contribuye al rol patogénico de la misma en diversas enfermedades que cursan con inflamación, ya sea en condiciones infecciosas o de inflamación estéril, como cáncer, aterosclerosis y autoinmunidad. En los últimos años se ha puesto de manifiesto la importancia de la inflamación en la patogenia de las NMP. Existe un aumento en los niveles circulantes de citoquinas proinflamatorias en

los tres fenotipos mieloproliferativos, siendo más marcado en la MF. El componente inflamatorio perpetúa la activación leucocitaria y endotelial favoreciendo el estado hipercoagulable, como lo refleja la asociación existente entre proteína C reactiva y riesgo trombótico⁽²²⁾. La inflamación podría contribuir a la activación plaquetaria en las NMP y, a su vez, la plaqueta podría liberar mediadores inflamatorios. Por ejemplo, la IL-1 constituye un agonista plaquetario y, por el contrario, la plaqueta es una fuente de citoquinas y quemoquinas, como IL-1, RANTES y factor plaquetario 4. En este contexto, las estrategias actuales dirigidas a atenuar el componente inflamatorio de las NMP podría influir en las respuestas plaquetarias, siendo un área de interés futuro⁽²³⁾.

Comentarios finales

La complejidad de los mecanismos protrombóticos que operan en las NMP y el juego cruzado entre los diversos componentes dificulta las estrategias dirigidas a la prevención trombótica y a la identificación de marcadores predictores del riesgo trombótico. La evaluación prospectiva y simultánea de los múltiples actores, incluidas las plaquetas, en una misma cohorte de pacientes podría permitir un avance en este campo y establecer con mayor precisión el riesgo trombótico vs. hemorrágico, contribuyendo de esta manera a guiar las decisiones terapéuticas, que por el momento se basan fundamentalmente en factores clínicos.

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

Bibliografía

1. Rumi E, Cazzola M. Diagnosis, risk stratification, and response evaluation in classical myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2017;129:680-92. doi: 10.1182/blood-2016-10-695957.
2. Barbui T, Finazzi G, Falanga A. Myeloproliferative neoplasms and thrombosis. *Blood*. 2013;122:2176-84.
3. Michiels JJ, Berneman Z, Schroyens W, Finazzi G, Budde U, van Vliet HH. The paradox of platelet activation and impaired function: platelet-von Willebrand factor interactions, and the etiology of thrombotic and hemorrhagic manifestations in essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Semin Thromb Hemost*. 2006;32:589-604.
4. Marin Oyarzun CP, Heller PG. Platelets as mediators of thromboinflammation in chronic myeloproliferative neoplasms. *Front Immunol*. 2019) 10:1373.
5. Falanga A, Marchetti M. Thrombosis in myeloproliferative neoplasms. *Semin Thromb Hemost*. 2014;40:348-58. doi: 10.1055/s-0034-1370794.
6. Avram S, Lupu A, Angelescu S, Olteanu N, Mut-Popescu D. Abnormalities of platelet aggregation in chronic myeloproliferative disorders. *J Cell Mol Med*. 2001) 5:79-87.
7. Grignani C, Noris P, Tinelli C, Barosi G, Balduini CL. In vitro platelet aggregation defects in patients with myeloproliferative disorders and high platelet counts: are they laboratory artefacts? *Platelets*. 2009;20:131-4.
8. Lussana F, Femia EA, Pugliano M, Podda G, Razzari C, Maugeri N et al. Evaluation of platelet function in essential thrombocythemia under different analytical conditions. *Platelets*. 2019;Mar 20:1-8.
9. Arellano-Rodrigo E, Alvarez-Larrán A, Reverter JC, Villamor N, Colomer D, Cervantes F. Increased platelet and leukocyte activation as contributing mechanisms for thrombosis in essential thrombocythemia and correlation with the JAK2 mutational status. *Haematologica*. 2006;91:169-75.
10. Jensen MK, de Nully Brown P, Lund BV, Nielsen OJ, Hasselbalch HC. Increased platelet activation and abnormal membrane glycoprotein content and redistribution in myeloproliferative disorders. *Br J Haematol*. 2000;110:116-24.
11. Moore SF, Hunter RW, Harper MT, Savage JS, Siddiq S, Westbury SK et al. Dysfunction of the PI3 kinase/Rap1/integrin α (IIb) β (3) pathway underlies ex vivo platelet hypoactivity in essential thrombocythemia. *Blood*. 2013;121:1209-19.
12. Ziakas PD. Effect of JAK2 V617F on thrombotic risk in patients with essential thrombocythemia: measuring the uncertain. *Haematologica*. 2008;93:1412-4.
13. Carobbio A, Finazzi G, Antonioli E, Guglielmelli P, Vannucchi AM, Delaini F et al. Thrombocytosis and

- leukocytosis interaction in vascular complications of essential thrombocythemia. *Blood*. 2008;112:3135-7.
14. Arellano-Rodrigo E, Alvarez-Larrán A, Reverter JC, Colomer D, Villamor N, Bellosillo B et al. Platelet turnover, coagulation factors, and soluble markers of platelet and endothelial activation in essential thrombocythemia: relationship with thrombosis occurrence and JAK2 V617F allele burden. *Am J Hematol*. 2009;84:102-8.
 15. Falanga A, Marchetti M, Vignoli A, Balducci D, Russo L, Guerini V et al. V617F JAK-2 mutation in patients with essential thrombocythemia: relation to platelet, granulocyte, and plasma hemostatic and inflammatory molecules. *Exp Hematol*. 2007;35:702-11.
 16. Charpentier A, Lebreton A, Rauch A, Bauters A, Trillot N, Nibourel O et al. Microparticle phenotypes are associated with driver mutations and distinct thrombotic risks in essential thrombocythemia. *Haematologica*. 2016;101:e365-8.
 17. Appelmann I, Kreher S, Parmentier S, Wolf H, Bisping G, Kirschner M et al. Diagnosis, prevention, and management of bleeding episodes in Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms: recommendations by the Hemostasis Working Party of the German Society of Hematology and Medical Oncology (DGHO) and the Society of Thrombosis and Hemostasis Research (GTH). *Ann Hematol*. 2016;95:707-718.
 18. Alvarez-Larrán A, Pereira A, Guglielmelli P, Hernández-Boluda JC, Arellano-Rodrigo E, Ferrer-Marín F et al. Antiplatelet therapy versus observation in low-risk essential thrombocythemia with a CALR mutation. *Haematologica*. 2016;101:926-31. doi: 10.3324/haematol.2016.146654.
 19. Tefferi A, Barbui T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2019 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol*. 2019;9:133-143.
 20. Pascale S, Petrucci G, Dragani A, Habib A, Zaccardi F, Pagliaccia F et al. Aspirin-insensitive thromboxane biosynthesis in essential thrombocythemia is explained by accelerated renewal of the drug target. *Blood*. 2012;119:3595-3603.
 21. Koupenova M, Clancy L, Corkrey HA, Freedman JE. Circulating platelets as mediators of immunity, inflammation, and thrombosis. *Circ Res*. 2018;122:337-51.
 22. Barbui T, Carobbio A, Finazzi G, Vannucchi AM, Barosi G, Antonioli E et al. Inflammation and thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera: different role of C-reactive protein and pentraxin 3. *Haematologica*. 2011;96:315-8.
 23. Keohane C, McLornan DP, Sanchez K, Connor C, Radia D, Harrison CN. The effects of JAK inhibitor therapy upon novel markers of thrombosis in myeloproliferative neoplasms. *Haematologica*. 2015;100:e348-50.



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.

ACV, más allá de la FA: Miocardiopatías

Stroke, more than AF: Cardiomyopathy

Noya L.
Complejo Medico Churruca Visca

lailanoya@gmail.com



**SIMPOSIO ACV:
MAS ALLA DE LA
FIBRILACION
AURICULAR**

HEMATOLOGÍA
Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 205-208
Octubre 2019

Palabras claves: anticoagulacion,
miocardiopatias,
eventos tromboembólicos.

Keywords: Anticoagulation,
cardiomyopathy,
thromboembolic events

Introducción

Las miocardiopatías constituyen un grupo de anomalías estructurales y funcionales del miocardio ventricular. Se clasifican como primarias o secundarias según se asocien o no a patología sistémica. Dentro de sus manifestaciones clínicas las complicaciones embólicas, principalmente ACV, son un factor importante de morbimortalidad a corto y largo plazo.

Miocardiopatía hipertrófica (MCH): es el desorden cardiovascular primario más común. Su diagnóstico se basa en la identificación de hipertrofia del ventrículo izquierdo (VI) definida como espesor mayor a 15 mm o más, sin dilatación, por medio del ecocardiograma (Eco) o resonancia magnética cardíaca (RMNc).

Es una patología de etiología hereditaria, autosómica dominante; aunque también se describen casos esporádicos.

Curso clínico: muchas veces es asintomática y su primera manifestación es la muerte súbita; insuficiencia cardíaca (IC) de grado variable y arritmias donde la fibrilación auricular (FA) es la más frecuente, afectando entre el 22 al 30% de los pacientes con MCH. El accidente cerebro vascular (ACV) es la complicación más importante de la FA, el tratamiento anticoagulante oral (ACO) a largo plazo reduce 7 veces el riesgo de ACV embólico y está indicado independientemente de la escala de CHA₂DS₂VASc. En un estudio retrospectivo que incluyó 4821 pacientes con MCH, el 9.8% de los pacientes con un puntaje de 0 según dicha escala sufrieron algún evento tromboembólico durante los 10 años de seguimiento.

La primera línea son los dicumarínicos (AVK), que tiene como objetivo mantener el RIN entre 2-3. Como alternativa surgen los anticoagulantes directos (DOACs), pero considerando que en los estudios de aprobación de los DOACs los pacientes con

MCH no fueron representados adecuadamente, ya que los mismos tienden a ser jóvenes y usualmente no presentan los factores de riesgo cardiovascular habituales (la media de edad de los pacientes participantes en los ensayos de DOACs fue de 70 años y la media de CHADS₂ >2), la recomendación sería su indicación en pacientes seleccionados y con precaución hasta contar con mayor evidencia en pacientes con HCM y FA.

Miocardiopatía dilatada (MCD): la MCD es un síndrome caracterizado por dilatación y alteración de la contractilidad del ventrículo izquierdo (VI) o de ambos ventrículos. La prevalencia estimada es del 1-1,5% de la población.

La manifestación clínica principal consiste en el desarrollo de signos y síntomas vinculables a IC. La falla cardíaca es un importante factor de riesgo para eventos cardioembólicos (ECE) sintomáticos o asintomáticos. Se estima que en pacientes con fracción de eyección (FEy) <35% y ritmo sinusal la tasa de ECE es del 4%.

Los estudios WATCH y WARCEF, que compararon warfarina con aspirina, demostraron una ligera ventaja de la primera en la prevención de ECE, con un discreto aumento del riesgo hemorrágico.

Las recomendaciones actuales para el tratamiento ACO en pacientes con MCD son: presencia de FA, antecedente de embolia sistémica como tromboembolismo pulmonar o ACV, o evidencia de trombo intracavitario. Debe considerarse la anticoagulación profiláctica en pacientes con alteración severa de la motilidad de la pared anterior del VI así como FEy muy disminuida.

La primera línea de tratamiento son los AVK, los ensayos clínicos con DOACs fueron diseñados inicialmente para evaluar la profilaxis de ACV en pacientes con FA. Incluyeron un porcentaje de pacientes con IC: no hubo diferencias significativas en los resultados de eficacia y seguridad en los pacientes con o sin IC. Al momento de indicarlos, considerar la presencia de comorbilidades y que es limitada la experiencia en esta población.

Miocardio no compacto (MNC): el VI no compacto es una forma de miocardiopatía primaria de baja prevalencia, caracterizada por la hipertrabeculación del miocardio, que conduce a la formación de espacios sinusoidales que contienen sangre proveniente

de la cavidad ventricular, sin comunicación con la circulación coronaria, formando un miocardio esponjoso. Afecta a niños y adultos, identificándose formas familiares (20-50% de los casos) y formas esporádicas.

El diagnóstico por ecocardiograma revela una relación >2 entre la capa gruesa no compacta y el miocardio compacto, con visualización de flujo sanguíneo por Doppler color en los recesos intertrabeculares prominentes. La RMNc proporciona detalles de la morfología cardíaca, aportando un 93.7% de sensibilidad y especificidad. Además, el refuerzo tardío con gadolinio permite identificar áreas de fibrosis miocárdica, lo que se considera factor pronóstico. Por la alta prevalencia de formas familiares, en caso de confirmar su diagnóstico se recomienda el estudio de familiares de primera línea.

Clínica: disnea, insuficiencia cardíaca, arritmias y tromboembolismo sistémico. El 63% de los pacientes presenta depresión de la FEy, la disfunción puede ser sistólica o diastólica. Las arritmias, incluida la FA, se reporta en el 25% de los adultos. Debería considerarse al VI no compacto como diagnóstico presuntivo o alternativo de ACV criptogénico o recurrente.

Los eventos tromboembólicos se ven en 13-24% de los casos. Podrían relacionarse a la formación de trombina en la zona trabeculada del ventrículo, asociada a la reducción de la función sistólica. La presencia concomitante de FA favorece la incidencia de ECE.

Tratamiento: control de la IC y de las complicaciones tromboembólicas que representan los eventos de mayor gravedad.

El tratamiento anticoagulante (con antagonistas de vitamina K) a largo plazo está recomendado en todos los pacientes con FA, antecedente de embolia sistémica, trombo intracardiaco o reducción de la FEy. El uso de anticoagulantes en pacientes con función sistólica conservada es controvertido.

Cardiopatía de estrés o síndrome de Takotsubo (CT): síndrome de disfunción ventricular izquierda aguda que simula un infarto de miocardio, reversible en la mayoría de los casos, en ausencia de alteración en la circulación coronaria. Usualmente es provocado por un estrés físico o emocional, por eso en la literatura también se lo describe como “síndrome de corazón roto”. En un tercio de los casos no se

identifica un desencadenante.

Más del 80 % de los casos ocurren en mujeres mayores de 50 años, pero en el sexo masculino se registra mayor riesgo de complicaciones y muerte.

Clínicamente se manifiesta como un síndrome coronario (SCA): dolor precordial, disnea, signos de insuficiencia cardíaca asociado a cambios en el ECG y elevación discreta de las enzimas cardíacas; menos frecuentemente puede presentarse con shock cardiogénico, síncope, arritmias o muerte súbita. La mortalidad intrahospitalaria relacionada a CT es comparable al SCA.

Criterios diagnósticos de la Clínica Mayo:

- Alteración transitoria de la motilidad del VI (hi-poquinesia, disquinesia o aquinesia) en algún segmento del VI con o sin compromiso apical, que se extiende más allá del territorio de una arteria coronaria determinada.
- Evento desencadenante (estrés), no siempre presente.
- Ausencia de lesión coronaria en la angiografía o de signos angiográficos de ruptura aguda de placa.
- Nuevas alteraciones electrocardiográficas (elevación del segmento ST o inversión de la onda T) y/o elevación discreta de troponina I (TrI).
- Ausencia de miocarditis o feocromocitoma.

Los eventos tromboembólicos se presentan en el 12.2% de los casos, principalmente trombo ventricular (TrV) causado por la estasis sanguínea producto de la aquinesia local y/o formación de aneurismas en la pared ventricular, disfunción endotelial secundaria al estado inflamatorio y al estado procoagulante inducido por catecolaminas.

Estudios demostraron la presencia de aneurisma o dilatación de la pared ventricular a niveles de TrI elevados (>10 ng/dl) en todos los pacientes con TrV; a su vez el nivel elevado de TrI fue un fuerte predictor independiente de formación de TrV.

En el registro internacional-multicéntrico GEIST (*German and Italian Stress Cardiomyopathy Registry*) se analizaron 541 pacientes con CT según los criterios diagnósticos de la clínica Mayo. Se evidenció TrV en el 2.2% de los pacientes, de los cuales 2 (17%) sufrieron ACV durante la internación que se manifestó antes del inicio de la terapia ACO. Todos los pacientes con TrV recibieron anticoagulación con HBPM, seguido de warfarina, hasta RIN 2-3.

A los tres meses de seguimiento se repitió ecocardiograma: en la totalidad de los pacientes la función

del VI se recuperó y no había evidencia de TrV en ninguno de los pacientes. En estos pacientes se discontinuó el tratamiento anticoagulante, excepto en un paciente que presentaba FA.

Ante la ausencia de estudios randomizados, sólo se cuenta con pocos estudios de registro multicéntricos, el nivel de evidencia para el tratamiento anticoagulante está basado en recomendaciones:

- La Asociación Europea de Cardiología recomienda anticoagulación (en todos los reportes antagonistas de la vitamina K, luego de heparina) por al menos 3 meses en TrV y lo sugiere de forma profiláctica en pacientes con Takotsubo de alto riesgo, definidos por al menos 1 factor de riesgo: >75 años, inestabilidad hemodinámica, FEy <35%, regurgitación mitral moderada a severa.
- En caso de aneurisma de pared y aumento de TnI, ACO debería considerarse.
- La presencia de FA es también criterio independiente de ACO.
- Luego de 3 meses de ACO se sugiere evaluación clínica y ecocardiográfica para documentar la resolución del trombo y la recuperación de la función del VI, con lo cual se plantea la discontinuación del tratamiento.
- El Comité Británico para Estándares en Hematología recomienda anticoagulación a largo plazo en pacientes que sufrieron complicaciones embólicas.

Miocardopatía asociada al embarazo (MAE): es una causa de morbilidad materna, siendo una de las principales en países desarrollados. Afecta al 0,2% de las embarazadas. Entre las formas descritas se incluyen: miocardopatía periparto (MPP), dilatada o hipertrófica

La más frecuente es la MPP que se manifiesta como IC con reducción de la FEy, presentándose en el último mes del embarazo o en los siguientes al parto, sin otra causa de falla cardíaca.

Se describen varios factores condicionantes como multiparidad, varios embarazos, raza negra, tabaquismo, diabetes, HTA, pre eclampsia, malnutrición y avanzada edad materna, así como mecanismos humorales como la prolactina.

Considerando el alto estado protrombótico de la fase final del embarazo asociado a la disminución de la FEy, en la MPP se recomienda al menos profilaxis con heparina de bajo peso molecular (HBPM) por el alto riesgo de tromboembolismo arterial o venoso (7% en los primeros 30 días post parto). Dosis

anticoagulantes de HBPM y/o AVK se recomiendan firmemente en pacientes con evidencia de TrV, embolia sistémica o FA.

Conclusión

Las miocardiopatías son una causa de eventos tromboembólicos ya sea por sí mismas o por su asociación frecuente a FA, por lo cual deben ser consideradas en el marco de los denominados ACV criptogénicos o en los recurrentes.

A pesar de que el nivel de evidencia sobre el tratamiento anticoagulante oral sigue siendo bajo, las recomendaciones apoyan su indicación en determi-

nadas situaciones, principalmente cuando se asocia a FA. En este último caso escalas como el CHAS₂ o CHAS₂ VASC no deben ser consideradas para definir la conducta ACO.

Hasta el momento siguen siendo de elección en primera línea los dicumarínicos precedidos o no (según la circunstancia) de heparina, principalmente HBPM. A pesar de que existe bibliografía apoyando el uso de los DOACs, aún debemos contar con mayor evidencia para generalizar su indicación y considerar las comorbilidades del enfermo al momento de elegir la mejor estrategia terapéutica.

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

Bibliografía

1. Maron BJ. Clinical course and management of Hypertrophic Cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2018;379:655-68.
2. Ammirati E, Contri R et al. Pharmacological treatment of hipertrophic cardiomyopathy: current practice and novel perspectives. *European Journal of Heart Failure*. 2016;18:1106-1118.
3. Dominguez F, Climent V et al. Direct oral anticoagulants in patients with hypertrophic cardiomyopathy and atrial fibrillation. *Int J Cardiol*. 2017;248:232-238.
4. Finsterer J, Stöllberger C. Primary prophylactic anticoagulation is mandatory if noncompaction is associated with atrial fibrillation or heart failure. *Int J Cardiol*. 2015;184:268-9.
5. Goud A, Padmanabhan S. A rare form of cardiomyopathy: left ventricular non-compaction cardiomyopathy. *J Community Hosp Internal Med Perspect*. 2016;6:29888.
6. Subahi A et al. Isolated left ventricular non-compaction and recurrent strokes: to anticoagulated or not to anticoagulated, that is the question. *BMJ Case Rep*. 2017. 2017-220954.
7. Kim E, Ozonoff A, Hylek EM et al. Predicting outcomes among patients with atrial fibrillation and heart failure receiving anticoagulation with warfarin. *Thromb Haemost*. 2015;114:70-7.
8. Zeitler EP, Eapen ZJ. Anticoagulation and heart failure: a review. *Journal of atrial fibrillation*. 2015;8: 31-8.
9. Mandaliya R et al. Left Ventricular Non-Compaction Syndrome Misdiagnosed as Dilated Cardiomyopathy on Several Occasions, Presenting With Recurrent Stroke. *Cardiol Res*. 2014;5(1):42-47.
10. Santoro F et al. Left Ventricular Thrombi in Takotsubo Syndrome: Incidencia, Predictores and management: Result from the GEIST (German Italian Stress Cardiomyopathy) Registry. *J Am Heart Assoc*. 2017; 6:e006990.
11. Jung H, Yang PS. Effectiveness and Safety of Non-Vitamin K Antagonist Oral Anticoagulants in Patients With Atrial Fibrillation With Hypertrophic Cardiomyopathy: A Nationwide Cohort Study. *Chest*. 2019 Feb; 155 (2): 354-363.
12. Ghadri JR; Wittstein IS; Prasad A; SharkeyKeigo D et al. International Expert Consensus Document on Takotsubo Syndrome: Clinical Characteristics, Diagnostic Criteria and Pathophysiology. *European Heart Journal*. 2018; 39: 2032-2046.
13. Bauersachs J et al. Pathophysiology, diagnosis and management of peripartum cardiomyopathy: a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology Study Group on peripartum cardiomyopathy. *European Journal of Heart Failure*. 2019;1-17.
14. Iftikhar SR, Biswas M. Cardiac Disease in pregnancy. *NCBI Books*. 2019;1-11.



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.

Tratamiento antitrombótico en ESUS (Embolic Stroke of Undetermined Source) Antithrombotic Treatment in ESUS.

Anti-vitamina K (AVK), anticoagulantes orales directos
(DOACs) o simplemente aspirina...?
Anti-vitamin K (AVK), direct oral anticoagulants (DOACs),
or simply aspirin....?

Fedele JL¹, Bruera GM²

¹ Jefe Servicio Hematología. Hospital Privado Rosario.

² Jefe Servicio Neurología. Hospital Privado Rosario.

joselfedele@gmail.com;
gmbruera@hotmail.com



**SIMPOSIO ACV:
MAS ALLÁ DE LA
FIBRILACIÓN
AURICULAR**

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 209-214
Octubre 2019

Palabras claves: ESUS,
accidente cerebrovascular,
tratamiento antitrombótico.

Keywords: ESUS,
stroke,
antithrombotic treatment.

Un accidente cerebrovascular isquémico (ACV) puede ocurrir como consecuencia de un amplio rango de enfermedades vasculares que provocan un tromboembolismo en el cerebro.

Establecer la causa subyacente del proceso es sumamente importante, porque ésta afecta directamente las decisiones terapéuticas.

Actualmente, los ACVs isquémicos son tratados, en su etapa aguda, con trombolíticos y/o trombectomía, independientemente de la causa que los originó. Esta modalidad terapéutica ha demostrado disminuir mortalidad y discapacidad. No obstante estos avances, la tasa de recurrencia puede llegar al 50% a los 5 años. Es trascendental, en este aspecto, establecer la causa patogénica de base, ya que ello nos permitirá implementar la mejor estrategia preventiva para reducir el riesgo de un nuevo evento cerebrovascular.

Un poco de historia...

Hacia finales de los 80, un grupo de investigadores

del National Institute of Neurological Disorders and Stroke (USA), trabajaban en el desarrollo de un ensayo con un anticoagulante intravenoso promisorio (Org 10172), para mejorar los resultados del tratamiento del ACV isquémico agudo⁽¹⁾.

Dicho trial fue denominado **TOAST** (*Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment*).

El comité que analizaba dicho protocolo enfatizó sobre la importancia de establecer el sub tipo patológico de ACV para obtener la mejor información posible acerca del uso del nuevo anticoagulante en la emergencia. El ensayo no contaba con este importante ítem.

Los investigadores fueron apercibidos de que el ensayo no sería financiado a menos que desarrollaran un sistema de clasificación de sub-tipos de ACV⁽¹⁾.

En respuesta a esta situación, un grupo de neurólogos de la Universidad de Iowa (USA), desarrollaron un programa de clasificación, al que posteriormente denominaron TOAST, en honor al motivo que lo ha-

bía originado.

Esta nueva clasificación, publicada en 1993⁽²⁾, estaba basada en hallazgos clínicos obtenidos a través de la historia clínica y el examen físico, resultados de imágenes del cerebro y diferentes estudios cardíacos, incluidas imágenes cardíacas y pruebas de ritmo cardíaco. La meta era obtener un sistema de clasificación que tuviese criterios claramente definidos y que fuera fácil de usar.

Sub-tipos de ACV isquémicos. Clasificación TOAST

Esta clasificación agrupa a los pacientes con ACV isquémicos en 5 amplias categorías, que representan los escenarios más comunes, basados en estudios clínicos y epidemiológicos previos⁽²⁾:

- 1) aterosclerosis de grandes vasos (de vasos intra o extra craneales).
- 2) oclusión de pequeñas arterias (lacunares)
- 3) cardioembolismo
- 4) otras causas demostradas
- 5) causa indeterminada (criptogénicos).

Un ACV puede ser atribuido a aterosclerosis de grandes vasos en pacientes que tienen hallazgos clínicos consistentes con un infarto que afecta la corteza cerebral o estructuras corticales y profundas, de ramas cerebrales o cerebelosas. Debería, además, existir la presencia de factores de riesgo para enfermedad vascular aterosclerótica o directamente presencia de dicha enfermedad en otros territorios (arterias coronarias, aorta o arterias periféricas). Los hallazgos en las imágenes, son la detección de infartos cerebrales hemisféricos, cerebelosos o de tronco. Las imágenes vasculares (arteriografía, doppler carotídeo o doppler transcraneal), deberían demostrar estenosis significativas (> 50%) en arterias grandes y medianas. Dichas estenosis también pueden ser corroboradas por tomografía axial computada (TAC) o resonancia magnética nuclear (RMN).

Los pacientes con un cuadro clínico tradicional de síndrome lacunar, tal como hemiparesia motora pura, pueden considerarse que tienen un ACV secundario a obstrucción de pequeñas arterias. Estos pacientes suelen ser diabéticos o hipertensos previos de larga data, factores de riesgo reconocidos como causa de estas obstrucciones. Las imágenes requieren la demostración de pequeños infartos (< 1.5 cm por TAC o < 2 cm por RMN por difusión), profundos, restringidos a ganglios basales, cápsula interna, tálamo o

tronco cerebral, y no demostrar hallazgos consistentes con aterosclerosis de grandes vasos, clínicamente relevantes. Este último punto es muy importante dada la presencia de factores de riesgo comunes en ambos tipos de enfermedad vascular.

El cuadro neurológico entre pacientes con ACV atribuido a cardioembolismo puede ser similar a aquellos con ACV secundario a aterosclerosis de grandes vasos, pero estos pacientes suelen tener evidencia de enfermedad cardíaca en la historia clínica o al examen físico. Las imágenes también pueden ser similares, pero éstos últimos suelen tener hallazgos de tromboembolismo en múltiples vasos, lo cual apoya el origen cardioembólico del proceso. La evaluación cardíaca suele ser anormal por electrocardiografía, monitoreo del ritmo cardíaco, imágenes cardíacas (ecocardiograma) o eventualmente cultivos positivos en pacientes en quienes se sospecha endocarditis bacteriana.

La categoría de ACV de otras causas determinadas incluye un grupo relativamente pequeño de pacientes con ACV isquémico, pero con una alta tasa en poblaciones especiales, tales como personas jóvenes. Los hallazgos clínicos varían considerablemente y es posible encontrar historia de enfermedades sistémicas (vasculitis) o estados pro-trombóticos. Las imágenes pueden imitar ACVs de grandes o pequeños vasos con un amplio espectro de cambios. Las imágenes vasculares pueden detectar cambios consistentes en vasculopatía no aterosclerótica.

Por último, el diagnóstico de ACV de causa indeterminada refleja la dificultad para hacer un diagnóstico patogénico en algunos casos. Se identifican 3 posibles escenarios:

- a) pacientes en quienes no se ha determinado la causa de su ACV porque la evaluación diagnóstica no se ha realizado (o completado), en particular imágenes del cerebro o estudios cardíacos.
- b) pacientes en quienes se identifica más de una de las causas anteriores, sin poder darle mayor trascendencia a una u otra.
- c) pacientes en quienes no se ha identificado ninguna causa, a pesar de haber completado los estudios diagnósticos. En estos casos, verdaderamente criptogénicos, al menos al inicio de la evaluación, en quienes se sospecha (pero no se confirma aún) un origen cardioembólico, se ha creado una nueva denominación: ESUS (*Em-*

bolic Stroke of Undetermined Source)⁽³⁾.

Existe una variedad de causas potenciales y los criterios clínico-imagenológicos para definir ESUS son los siguientes:

Definición de ESUS... A qué llamamos ESUS...? (*Embolic Stroke of Undetermined Source*)⁽³⁾

- 1) NO evidencia de ACV lacunar por TAC o RMN. ACV lacunar se define como infartos sub-corticales menores de 1.5 cm (< 2 cm con RMN de difusión), en distribución de arterias pequeñas y penetrantes, de los hemisferios cerebrales y el puente.
- 2) AUSENCIA de aterosclerosis intra o extra-cranial, que cause 50% o más de estenosis de la luz de arterias relacionadas a la zona del ACV.
- 3) NO causas mayores de cardioembolismo (FA paroxística o permanente, aleteo auricular, trombo intracardiaco, válvulas cardíacas protésicas, tumores cardíacos, estenosis mitral reciente, IAM, disminución de la fracción de eyección cardíaca (FEY < 30%), vegetaciones valvulares o endocarditis infecciosa).
- 4) NO otras causas de ACV identificadas (arteritis, disección, migraña / vasoespasma, abuso de drogas).

Si bien la clasificación TOAST fue desarrollada antes del advenimiento de métodos diagnósticos ampliamente usado en la actualidad (angio RMN, RMN difusión, angio-TAC), los resultados de estos estudios actuales fueron rápida y efectivamente incluidos en la clasificación y hoy son piedra fundamental para la utilización de la misma. Dicha clasificación no debe considerarse un instrumento estático, y puede ser modificada en función del avance de los métodos diagnósticos⁽¹⁾.

Algunos puntos oscuros de la clasificación TOAST son⁽¹⁾:

- no fue validada para determinar el sub-tipo patológico de ACV en niños.
- en casos de causas mixtas demostradas, para un amplio rango de desórdenes con diferentes tratamientos y pronóstico. Por ejemplo un paciente con un evento embólico en el hemisferio izquierdo, con estenosis carotídea ipsolateral y fibrilación auricular.

Epidemiología del ESUS

En una revisión sistemática (12 estudios) sobre la

frecuencia del ESUS se reportó un amplio rango de prevalencia, con una incidencia entre 7 a 42% de todos los ACV Isquémicos⁽⁴⁾.

El que reportó la mayor incidencia fue un estudio cuya evaluación se restringía a pacientes jóvenes (entre 18 y 55 años)⁽⁵⁾, mientras que en los que se reportaron las menores frecuencias, los pacientes no habían sido sometidos a monitoreo de ritmo cardíaco, requerido para el diagnóstico de ESUS^(6,7). En promedio, el porcentaje de frecuencia puede redondearse en 17%, aunque la mayoría de los autores reflejan una incidencia cercana al 25% (rango de 9 a 40%). Probablemente estas variaciones obedezcan a que en la mayoría de los estudios se han realizado evaluaciones diagnósticas incompletas⁽⁸⁻¹²⁾.

La edad media de los pacientes con ESUS fue 65 años y 58% correspondían al género masculino. No obstante, la mayoría de los pacientes con ESUS eran jóvenes, con menor frecuencia de factores de riesgo cardiovascular que los pacientes con ACV no-ESUS^(5-7,9).

El índice NIHSS (*) para los pacientes con ESUS fue de 5 y muchos reportaron presencia de foramen oval permeable en estos pacientes (entre el 25 y 50%)^(10,12,13).

En 2014, 2 estudios de calidad adecuada reportaron episodios breves, de algunos minutos, de fibrilación auricular en 10 a 20% de los pacientes con ACV criptogénico, si la duración de monitoreo cardíaco era adecuada (usualmente 24 hs o más). No obstante, la verdadera incidencia de FA subyacente se desconoce, ya que en los ensayos se han utilizado diferentes tipos de monitoreo, y con diferentes duraciones de los mismos para la detección de FA paroxística. Asimismo, permanece incierto qué número de pacientes con ESUS pueden tener FA si se realizan monitoreos de muy largo plazo^(14,15).

La tasa de recurrencia de ACV en los pacientes con ESUS fue estimada en 4.5% por año, en un seguimiento a 3 años. La mayoría de estos pacientes estaban recibiendo terapia antiplaquetaria simple y sólo un 13% de los reportados estaban anticoagulados, aunque los reportes fueron incompletos. Se desconoce si la tasa de recurrencia es particularmente alta en las primeras semanas luego del evento, y si esta tasa varía de acuerdo a la causa presumida del mismo (Ej: ESUS asociado a FOP vs ESUS asociado a placa del arco aórtico)^(7,9).

En un intento de establecer una estratificación del

riesgo de recurrencia, un grupo liderado por el Dr Gregory Lip analizó la tasa de recurrencia de ACV isquémico/AIT y muerte en pacientes con antecedente reciente de ESUS, con las conocidas escalas de CHADS2/CHA2DS2-VASc. Dicho estudio reveló que los pacientes con riesgo elevado (CHA2DS2-VASc >2), tenían 13 veces más riesgo de recurrencia que aquéllos con índices más bajos⁽¹⁶⁾.

Como dato adicional, el análisis histopatológico de especímenes extraídos por tratamiento endovascular en pacientes con ESUS mostró que los trombos fueron ricos en eritrocitos en un 13%, de composición mixta en 80% y sólo 8% ricos en plaquetas. Esto apoya aún más la hipótesis del origen embólico del ESUS⁽¹⁷⁾.

Estos últimos datos, más la idea, cada vez más fuerte, de que los ESUS tiene un origen embólico, motivó la hipótesis de que la terapia anticoagulante podría ser más eficaz que los agentes antiplaquetarios en la prevención secundaria de los pacientes con ESUS.

(*) El *National Institute of Health Stroke Scale* (NIHSS) categoriza la severidad del ACV de acuerdo a diferentes síntomas/signos con una puntuación de 1 a 40.

Tratamiento del ESUS

Dado que el término ESUS fue recientemente introducido a la literatura (2014), algunas de las guías más utilizadas para el tratamiento del ACV, no mencionan recomendaciones oficiales para el tratamiento específico de esta entidad. Y las más recientes recomiendan, con bajo nivel de evidencia, la administración de aspirina como tratamiento y prevención secundaria⁽³⁾.

Si bien la mortalidad de pacientes con ESUS es menor que la mortalidad de pacientes con ACV cardioembólico, la tasa de recurrencia y de eventos compuestos cardiovasculares es similar y, a su vez, mayor que en los ACVs no embólicos (ateromatosis y lacunar)^(7,9), lo cual es un signo claro de que las actuales estrategias antitrombóticas para tratar a los pacientes con ESUS (antiplaquetarios) son subóptimas.

Al momento 2 ensayos evaluaron el uso de anticoagulantes orales directos en esta situación y un tercero está en curso.

NAVIGATE ESUS (Rivaroxaban for secondary stroke prevention in patients with embolic stroke of undetermined source)⁽¹⁸⁾. Este trabajo internacional, multicéntrico, randomizado, doble ciego, evaluó

eficacia y seguridad de rivaroxabán 15 mg/día VO vs aspirina 100 mg/día VO para la prevención del ACV recurrente, en pacientes con ACV isquémico reciente, en quienes se presumía un origen embólico, sin la demostración de estenosis arterial, isquemia lacunar o causa cardioembólica definida.

Incluyó 7.200 pacientes, con aproximadamente 3.600 en cada rama y tuvo un seguimiento de 11 meses, punto en el cual el estudio fue prematuramente cerrado por la no demostración de un beneficio con respecto al descenso del riesgo de recurrencia y la mayor tasa de sangrado asociada al rivaroxabán.

La tasa de ACV fue del 4.7% (tasa anualizada) en la rama de rivaroxabán vs 4.7% (tasa anualizada) en la de aspirina, mientras que el sangrado mayor ocurrió en 1.8% (tasa anualizada) de los pacientes que recibían rivaroxabán vs 0.7% (tasa anualizada) de los que estaban recibiendo aspirina. Como dato adicional a mencionar, la dosis de rivaroxabán fue menor a la aprobada para prevención de ACV en pacientes con FA.

Los autores concluyeron que el rivaroxabán no fue superior a la aspirina en la prevención de ACV recurrente, en pacientes con ESUS y estuvo asociado a un significativo mayor riesgo de sangrado.

RE-SPECT ESUS (Evaluation in secondary Stroke Prevention comparing the efficacy and safety of the oral Thrombin inhibitor Dabigatran Etxilate vs Acetylsalicylic acid in patients with Embolic stroke of Undetermined Source)⁽¹⁹⁾. Este estudio multicéntrico, doble ciego, randomizado evaluó dabigatrán VO 150 mg y 110 mg, 2 veces al día vs aspirina 100 mg/día VO, en pacientes que habían tenido un ESUS. El objetivo primario de eficacia fue la recurrencia del ACV y el objetivo primario de seguridad fue el sangrado mayor.

Se enrolaron 5.390 pacientes con aproximadamente 2.700 pacientes a cada rama (dabigatrán y aspirina respectivamente). La dosis de 110 mg de dabigatrán fue utilizada en los pacientes mayores de 75 años y en aquéllos en que la función renal estimada estaba entre 30 y 50 ml/min por ecuación de Cockcroft). Con un seguimiento de 19 meses, la tasa de recurrencia de ACV global fue del 4.1% (tasa anualizada) en la rama de dabigatrán vs 4.8% (tasa anualizada) para la rama de aspirina. La tasa de ACV isquémicos ocurrieron en un 4% anual para dabigatrán y 4.7% para aspirina. En la evaluación de seguridad, el sangrado mayor ocurrió en el 1.7% (tasa anualizada) de

pacientes que recibían dabigatrán vs el 1.4% (tasa anualizada) de los que recibían aspirina. La tasa de sangrado no mayor, clínicamente relevante, fue del 1.6% en la rama de dabigatrán vs 0.9% en la rama de aspirina.

La conclusión de los autores fue que, en pacientes con historia reciente de ESUS, el dabigatrán no fue superior a la aspirina en la prevención del ACV recurrente. La incidencia de sangrado mayor fue similar en ambos grupos, pero hubo una mayor incidencia de sangrado no mayor clínicamente relevante, en aquellos pacientes que recibieron dabigatrán.

Un tercer trabajo que evalúa apixabán vs aspirina en prevención de recurrencia de ACV en pacientes con ESUS (ATTICUS), como se mencionó anteriormente, está en curso al momento (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02427126>).

El ticagrelor es un antiplaquetario muy efectivo para pacientes con enfermedad aterosclerótica documentada y ha probado ser más efectivo que la aspirina e incluso que el clopidogrel en el tratamiento y la prevención de recurrencia de eventos cardiovasculares (PLATO – PEGASUS-TIMI 54). Bajo esta hipótesis se desarrolló el estudio SOCRATES⁽²⁰⁾, que evaluó si ticagrelor era más efectivo que la aspirina en la prevención de ACV en pacientes con ESUS. Los autores hallaron que ticagrelor no fue superior a aspirina para reducir el riesgo de ACV recurrente en pacientes con ESUS. Dado que los pacientes con ESUS son un grupo heterogéneo en cuanto a la posible causa del evento, este estudio halló que un subgrupo de estos pacientes, quienes tenían enfermedad aterosclerótica significativa (pero no reunían criterios para catalogar el ACV como enfermedad aterosclerótica de grandes vasos), mostraron una reducción significativa de la tasa de recurrencia de ACV del 49%, pero sólo de un 2% en el grupo restante, sin enfermedad aterosclerótica significativa.

Al momento de este escrito, también se está desarrollando un ensayo, que evalúa apixabán vs aspirina (ARCADIA)⁽²¹⁾, (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30196789>) en pacientes con ESUS y evidencia de cardiopatía auricular, definida por la presencia de más de uno de los siguientes marcadores: índice >3 cm/m² del diámetro auricular por eco, pro-BNP >250 ng/ml y una fuerza terminal de la onda P >5000 uV en V1. Como criterio fundamental se excluye la presencia de FA. Se piensa que esta entidad recientemente reconocida, la cardiopatía au-

ricular, puede actuar como una fuente embolígena, aun en ausencia de fibrilación auricular y podría ser una causa más, de las varias implicadas, en la patogenia del ESUS.

No se han desarrollado estudios que pongan a prueba los anticoagulantes tradicionales (anti-vitamina K) en esta condición clínica, probablemente porque el ESUS, como entidad nosológica, es muy reciente, y las distintas opciones terapéuticas posibles para la misma se comenzaron a estudiar cuando ya estaban definitivamente arraigados los anticoagulantes orales directos en la patología trombótica.

Conclusión

Los pacientes con ESUS son un grupo muy heterogéneo en cuanto a la patogenia como causa de su evento vascular que incluye: estenosis aterosclerótica de arterias cerebrales ipsolaterales < 50%, enfermedad ateromatosa del arco aórtico, anomalías cardíacas consideradas menores (o moderadas) como ser: foramen oval permeable, aneurisma del septum auricular, deterioro de la FEY > 35%, aurícula izquierda agrandada >20 cm² o cardiopatía auricular (sin FA), ecos de contraste espontáneo en aurícula izquierda o FA paroxística no detectada.

Desde su concepción, el concepto ESUS surge a partir de la incapacidad de definir la causa subyacente en un importante número de pacientes con ACV. Más aún, con el desarrollo de los diferentes ensayos comentados anteriormente, se corrobora ese concepto, ya que diferentes estrategias terapéuticas ensayadas no han podido demostrar superioridad al tratamiento convencional con aspirina que, en el mejor de los casos, tiene un impacto moderado en cuanto a la reducción de la tasa de recurrencia de una entidad con alta frecuencia y alta tasa de recurrencia.

Claramente se necesitan más ensayos clínicos, con mayor rigurosidad en la incorporación de pacientes, que evalúen sub-poblaciones más homogéneas en cuanto a las diferentes causas potenciales del ESUS, para así obtener, tal vez, mayor rédito de la terapia antitrombótica en estos pacientes; que, en las hipótesis previas parecía ser superior a la terapia antiplaquetaria, cosa que no se pudo demostrar hasta ahora en los ensayos clínicos, cuyos resultados fueron neutros o negativos.

Por el momento y hasta no disponer de datos favorables en relación al uso de antitrombóticos en pacientes con ESUS..., simplemente aspirina...

Conflictos de interés: El Dr José Luis Fedele declara haber recibido honorarios por parte de Boehringer Ingelheim por concepto de conferencias, actividades educativas y asesorías / consultorías en las que ha participado. El resto de los autores declara no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

1. Adams HP, Biller J. Classification of Subtypes of Ischemic Stroke. *Stroke*. 2015; 46: e114-e117.
2. Adams HP, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J. Classification of Subtypes of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke*. 1993;24:35-41.
3. Hart RG, Diener HC, Cottus SB & col. Cryptogenic Stroke/ESUS International Working Group. Embolic strokes of undetermined source: the case for a new clinical construct. *Lancet Neurol*. 2014;13:429-438.
4. Hart RG, Catanese L, Kanjana S & col. Embolic Stroke of Undetermined Source. A systematic Review and Clinical Update. *Stroke*. 2017;48:867-872.
5. Ladeira F, Barbosa R, Caetano A. Embolic Stroke of unknown source (ESUS) in young patients. *Int J Stroke*. 2015;10 (Suppl A100):165-170.
6. Li L, Yiin GS, Geraghty OC & col. Oxford Vascular Study. Incidence, outcome, risk factor, and long-term prognosis of cryptogenic transient ischemic attack and ischemic stroke: a population-based study. *Lancet Neurol*. 2015;14:903-913.
7. Putaala J, Nieminen T, Haapaniemi E & col. Undetermined stroke with a embolic pattern-a common phenotype with early recurrence risk. *Ann Med*. 2015;47:406-413.
8. Masina M, Cicognani A, Lofiego C & col. Embolic stroke of undetermined source: a retrospective analysis from Italian stroke unit. *Italian J Med*. 2016;10:202-206.
9. Ntanos G, Papavasileiou V, Milonis H & col. Embolic stroke of undetermined source in the Athens stroke registry: a descriptive analysis. *Stroke*. 2015;46:176-181.
10. Perera KS, Vanassche T, Bosch J & col. ESUS Global Registry Investigators. Embolic stroke of undetermined source: Prevalence and patient features in the ESUS Global Registry. *Int J Stroke*. 2016;11:526-533.
11. Montero MV, Pastor AG, Cano BC & col. The ASCO classification identifies cardioembolic phenotypes in a high proportion of embolic stroke undetermined source (ESUS). *J Neurol Sci*. 2016;367:32-33.
12. Ueno Y, Yamashiro K, Tanaka R & col. Emerging risk factor for recurrent vascular events in patients with embolic stroke of undetermined source. *Stroke*. 2016;47:2714-2721.
13. Katsanos AH, Bhole R, Frogoudaki A & col. The value of transesophageal echocardiography for embolic stroke of undetermined source. *Neurology*. 2016;87:988-955.
14. Gladstone DJ, Spring M, Dorian P & col. EMBRACE Investigators and Coordinators. Atrial Fibrillation in patients with cryptogenic stroke. *NEJM*. 2014;370:2467-2477.
15. Sanna T, Diener HC, Passman RS & col. CRYSTAL AF Investigators. Cryptogenic stroke and underlying atrial fibrillation. *NEJM*. 2014;370:2478-2486.
16. Lip GY, Ntaios G, Vemmos K & col. Risk Stratification for Recurrence and Mortality in Embolic Stroke of Undetermined Source. *Stroke* 2016;47:2278-2285.
17. Boeckh-Behrens T, Kleine JF, Zimmer C & col. Thrombus histology suggest cardioembolic cause in cryptogenic stroke. *Stroke*. 2016;47:1864-1871.
18. Hart RG, Connolly SJ, Sharma H & col. NAVIGATE Investigators. Rivaroxaban for Stroke Prevention after Embolic Stroke of Undetermined Source. *NEJM*. 2018;378:2191-2201.
19. Diener HC, Sacco RL, Easton JD & col. Dabigatran for Prevention of Stroke after Embolic Stroke of Undetermined Source. RE-SPECT Steering Committee and Investigators. *NEJM*. 2019;380:1906-1917.
20. Amarencu P, Albers GW, Denison H & col. Ticagrelor vs Aspirin in Acute Embolic Stroke of Undetermined Source. SOCRATES Steering Committee and Investigators. *Stroke*. 2017;48:2480-2487.
21. Kamel H, Longstreth WT Jr, Tirschwell DL & col. The Atrial Cardiopathy and Antithrombotic Drugs in Prevention after cryptogenic Stroke randomized trial. *Int J Stroke*. 2019;14(2):207-214.



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.

Tratamiento antitrombótico en foramen oval permeable y cierre de la orejuela

Antithrombotic treatment in patent foramen ovale and left atrial appendage closure

Cortés Guerrieri V.

*Jefa de Departamento de Hematología Clínica del Instituto de Investigaciones
Médicas Alfredo Lanari - Universidad de Buenos Aires
Médica de planta del Instituto Cardiovascular de Buenos Aires*

hematologiaclinica@lanari.fmed.uba.ar



**SIMPOSIO ACV:
MAS ALLÁ DE LA
FIBRILACIÓN
AURICULAR**

HEMATOLOGÍA
Volumen 23 Número Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 215-220
Octubre 2019

Palabras claves: foramen oval permeable,
cierre orejuela auricular izquierda,
terapia antitrombótica.

Keywords: patent foramen ovale,
left atrial appendage closure,
antithrombotic therapy.

Foramen oval permeable

Introducción

El foramen oval permeable (FOP) es una anomalía anatómica frecuente que se presenta en alrededor del 20-34% de la población general. El cierre del tabique auricular ocurre luego del nacimiento. En algunos casos el septum auricular *primum* y el *secundum* no se fusionan adecuadamente. Persiste, por lo tanto, una comunicación entre la aurícula derecha e izquierda. Ésta se hace más evidente en situaciones que aumentan la presión intratorácica, como toser o estornudar.

En la mayoría de las personas el FOP no se detecta o aparece como hallazgo en algún estudio durante una evaluación cardiológica⁽¹⁾.

El accidente cerebrovascular isquémico (ACVi) se

relaciona habitualmente con la presencia de factores de riesgo cardiovascular clásicos. Sin embargo, en algunos pacientes se desconoce el mecanismo o causa que lo produce y se denomina ACV criptogénico (alrededor del 30%).

Estudios observacionales demostraron la asociación entre la presencia de FOP y ACV criptogénico, sugiriendo que podría explicarse el ACVi por un mecanismo de embolia paradójica.

¿Cuándo debo pensar en FOP como causa del evento? ¿Cuál es el riesgo de ACVi en pacientes con FOP? ¿Cuál es el riesgo de recurrencia?

EL ACVi tiene potencialmente muchas etiologías y el FOP es una variante anatómica frecuente, por lo cual es importante determinar si el hallazgo del

mismo es incidental o está relacionado con el evento clínico.

En el estudio RoPE (*Risk of Paradoxical Embolism*) se incluyeron 3023 pacientes con ACVi de los cuales 1274 (42%) tenían FOP. Los pacientes con ACV-FOP eran más jóvenes, tenían menos factores de riesgo cardiovascular clásicos y presentaban infartos más extensos (> 1 a 1.5 cm) y más superficiales que en el grupo de pacientes con ACV sin FOP. Los investigadores de este estudio proponen el uso de una escala de puntaje para estimar la causalidad del FOP en el ACVi de cada paciente (Tablas 1 y 2). Los pacientes con puntaje máximo en quienes el ACVi es atribuible a la presencia del FOP son menores de 30 años, sin historia de hipertensión arterial, ACVi previo, ni diabetes, no fumadores y con

infarto cortical. En estos pacientes se encontró un riesgo bajo de recidiva (2% a los 2 años). Aunque este riesgo es bajo, permanece constante en el tiempo y no es despreciable en pacientes jóvenes⁽²⁾.

Tratamiento

Hasta 2017 el tratamiento de estos pacientes se basaba en estudios observacionales y randomizados publicados en 2012 y 2013 en los cuales no pudo establecerse la superioridad del cierre de FOP en comparación con el tratamiento antitrombótico en la reducción del riesgo de recurrencia de ACVi.

Más recientemente se publicaron análisis extendidos del RESPECT trial y 3 ensayos (Gore REDUCE, CLOSE, DEFENSE-PRO) que reportaron una menor incidencia de recurrencia de ACVi en pacien-

Tabla 1. Puntaje RoPE

Características	No	Si
Hipertensión arterial	+1	
Diabetes	+1	
ACV previo	+1	
Fumador	+1	
Infarto cortical en imágenes		+1
Edad en años		
18-29		+1
30-39		+1
40-49		+1
50-59		+1
60-69		+1
≥ 70		0

Tabla 2. Fracción de pacientes con ACVi atribuible al FOP, riesgo de recurrencia estimado a los 2 años según puntaje RoPE

Puntaje	ACV atribuible al FOP, %	Recurrencia estimada 2 años, %
0-3	0 (0-4)	20 (12-28)
4	38 (25-48)	12 (6-18)
5	34 (21-45)	7 (3-11)
6	62 (54-68)	8 (4-12)
7	72 (66-76)	6 (2-10)
8	84 (79-87)	6 (2-10)
9-10	88 (83-91)	2 (0-4)

tes randomizados para el cierre de FOP en comparación con los controles.

En 2018 un metanálisis incluyó 3560 pacientes de 6 estudios randomizados. Los pacientes tenían ≤ 60 años (excepto en un trabajo). La media de seguimiento fue de 2 a 5.9 años. El dispositivo más usado fue el Amplatzer. El cierre del FOP se asoció con menor riesgo de recurrencia de ACVi en comparación con el tratamiento antiplaquetario o la anticoagulación (ACO) (Tabla 3).

La disminución de la recurrencia fue mayor en aquellos pacientes con FOP de mayor tamaño o asociado a aneurisma del septum, comparado con los pacientes que no tenían estas variantes anatómicas. El riesgo de eventos adversos relacionados con el procedimiento de cierre fue 2.4-3.6%. La fibrilación auricular aumentó 1.8% durante el primer año luego del cierre⁽³⁻⁴⁾.

El cierre del FOP más terapia antiplaquetaria reduce el riesgo de recurrencia de ACVi comparado con terapia antiplaquetaria (8.7%).

Es posible que la ACO logre una reducción similar de la recurrencia de ACVi que el cierre del FOP y una mayor reducción del riesgo que la terapia antiplaquetaria. Sin embargo, aumenta el riesgo de sangrado. Un solo trabajo comparó el cierre del FOP versus terapia anticoagulante (CLOSE). En el grupo que recibió terapia anticoagulante hubo 3 eventos en 180 pacientes vs 0 evento en 180 pacientes randomizados a cierre. No pudo hacerse análisis de subgrupos por el tipo de droga debido al número bajo de pacientes bajo tratamiento anticoagulante oral. La evidencia en relación al tratamiento anticoagulante vs otro tratamiento es de baja calidad⁽³⁾.

Los tres ensayos que evaluaron el tratamiento antiplaquetario versus ACO no hallaron diferencias.

El riesgo de muerte o de embolia sistémica entre las diferentes estrategias terapéuticas fue similar.

Conclusiones

En relación al cierre del FOP en pacientes con ACVi:

- se asocia con menor recurrencia comparado con el tratamiento médico en pacientes ≤ 60 años.
- los pacientes con variantes anatómicas de riesgo parecen beneficiarse más.
- aumenta el riesgo de fibrilación auricular.

Hay suficiente evidencia para concluir que, en pacientes cuidadosamente seleccionados hasta los 60 años de edad en quienes se excluyeron otras causas de ACVi, el cierre de FOP es superior al tratamiento antitrombótico para prevenir la recurrencia.

Cierre de la orejuela

Introducción

La fibrilación auricular (FA) es la arritmia cardíaca más frecuente. La anticoagulación oral (ACO) es el tratamiento de elección en la prevención primaria y secundaria de ACVi en pacientes con FA. Los dicumarínicos disminuyen el riesgo de ACVi en un 64%. A pesar de la utilidad de los antivitaminas K (AVK) sólo la mitad de los pacientes continúan anticoagulados a los 3 años del inicio de la terapia. Los anticoagulantes directos (ACOD) tienen una eficacia similar o superior a los AVK, con menor riesgo de sangrado global. Además no se necesita control para ajuste de dosis, lo cual aumenta la adherencia al tratamiento.

Sin embargo, existe un grupo de pacientes en

Tabla 3. Riesgo relativo de ACVi recurrente en pacientes randomizados a cierre de FOP versus tratamiento antitrombótico o antiplaquetario⁽⁵⁻⁷⁾

Estudio	Cierre	Antitrombótico	RR
Cierre de FOP vs. tratamiento antitrombótico			
CLOSURE (2012)	12/447	13/462	0.95
PC trial 2013	1/204	7/210	0.15
RESPECT 2017	18/499	28/481	0.62
DEFENSE-PRO 2018	0/60	5/60	0.62
Cierre de FOP vs. tratamiento antiplaquetario			
Gore REDUCE2017	6/441	12/223	0.25
CLOSE 2017	0/238	14/235	0.03

quienes el riesgo hemorrágico es muy alto y la terapia ACO está contraindicada. Por otra parte, ocurren eventos embólicos aún bajo tratamiento anticoagulante adecuado.

En estos casos una alternativa terapéutica es el cierre de la orejuela auricular izquierda (OAI).

La OAI es el remanente de la aurícula primitiva izquierda. Su función en el corazón adulto se desconoce. En ella se originan el 90% de los trombos en pacientes con FA⁽⁸⁾.

Pacientes elegibles para cierre de la OAI

- Pacientes de alto riesgo isquémico (CHA₂DS₂-VASc ≥ 2) con alto riesgo de sangrado (HASBLED ≥ 3)
- Contraindicación de ACO (CI ACO)
 - ✓ Hemorragia activa
 - ✓ Diátesis hemorrágica
 - ✓ Trombocitopenia severa
 - ✓ Hemorragia intracerebral reciente
 - ✓ Lesión sistema nervioso /órgano crítico con alto riesgo de sangrado (aneurismas cerebrales, disección aórtica (tratamiento conservador), pericarditis, derrame pericárdico, endocarditis)
- Considerar en:
 - ✓ antecedentes de sangrado gastrointestinal, genitourinario o respiratorio
 - ✓ pacientes sin supervisión, seniles y/o con alto riesgo hipersensibilidad a drogas.
 - ✓ hipersensibilidad a drogas.

En aquellos pacientes que presentan un sangrado mayor bajo AVK se debe evaluar: la posibilidad de modificar los factores del riesgo de sangrado, el riesgo de re sangrado, y si los ACOD son una alternativa terapéutica.

La historia de sangrado gastrointestinal es el mayor predictor de recidiva en pacientes con antecedentes de sangrado mayor o clínicamente relevante que son expuestos a ACOD. La recurrencia del sangrado es de alrededor 63% y se produce en una mediana de tiempo de 17 días (1-112).

Cierre - Dispositivos - Tratamiento antitrombótico

El concepto del cierre de la orejuela no es nuevo y se ha realizado en forma quirúrgica desde hace alrededor de 50 años. Existen distintos tipos de dispositivos (Tabla 4). Los primeros estudios fueron realizados en pacientes elegibles para anticoagulación y requerían de tratamiento ACO. En algunos dispositivos no es necesario el tratamiento ACO.

El estudio PROTECT AF (Watchman) demostró que la oclusión de la OAI no fue inferior a warfarina en prevenir muerte cardiovascular, embolia central o periférica. En este estudio se halló una alta tasa de complicaciones y falla de implante del dispositivo. En el PREVAIL la tasa de implante mejoró y disminuyeron las complicaciones del procedimiento y concluyó que el cierre de OAI con Watchman es superior a la warfarina en la prevención de los eventos combinados a los 18 meses. En el seguimiento a 5 años el cierre mostró eficacia superior (menos muerte cardiovascular, menor mortalidad) y tasa de ACV global y seguridad similar en comparación con los pacientes tratados con warfarina.

Cuatro estudios se focalizaron en pacientes con CI ACO, tres prospectivos y otro retrospectivo. En estos estudios no randomizados se calculó la embolia y el sangrado esperado según el CHADS 2 y el

Tabla 4. Dispositivos experiencia mundial

	FDA	CEM	Número de procedimientos
Watchman	Sí	Sí	>50.000
Amulet	No	Sí	>30.000
Lariat	Sí	Sí	>3500
Lambre	No	Sí	aproximadamente 500
Ultraseal	No	Sí	Aproximadamente 500
Wavecrest	No	Sí	<300
Aegis Medical	No	No	<10

HASBLED. (Tabla 5)

Tratamiento antitrombótico

- AMPLATZER 1-3 meses ácido acetil salicílico (AAS) 100 mg, clopidogrel 75 mg (TAD) - AAS 3 meses a indefinido
- LARIAT sin tratamiento antitrombótico o AAS o TAD o AVK
- WATCHMAN aprobado 2017
 - TAD 3 - 6 meses
 - ACOD más AAS 3 meses
- Otros dispositivos: TAD 1 - 6 meses
- Considerando la indicación para pacientes con contraindicación de ACO
- La evidencia sugiere 6 semanas de TAD o sólo AAS(12).

Recomendaciones

Guías europeas

- ✓ El cierre de la orejuela debe ser considerado en pacientes con FA para la prevención de ACVi con contraindicación para el tratamiento anti-coagulante a largo plazo (IIbB)
- ✓ Luego del cierre se recomienda la continuación del ACO (IB).
- ✓ Sociedad Argentina de Cardiología

- ✓ La oclusión de la OAI mediante un dispositivo es razonable en pacientes con FA, Chadsvasc 2 y contraindicación para recibir ACO (IIaB).

Conclusiones

La oclusión de la OAI es una alternativa para pacientes con contraindicación para ACO. Los estudios randomizados están limitados al dispositivo Watchman y no incluyeron pacientes intolerantes a ACO. Sin embargo, estudios observacionales sugieren la reducción del riesgo embólico similar en pacientes con Watchman, ACT, Amulet que sólo reciben tratamiento antiplaquetario o nada en comparación a los que reciben ACO. Se requieren más estudios randomizados para evaluar la seguridad y eficacia de estos dispositivos en pacientes que no pueden recibir ACO.

La posibilidad de tratamiento combinado de ablación de FA más cierre de OAI es una estrategia terapéutica atractiva y una realidad en algunos centros. Sin embargo, debe ser reservada para pacientes muy seleccionados hasta que los datos clínicos preliminares sean corroborados por estudios randomizados⁽¹⁴⁾.

Tabla 5. Estudios prospectivos en pacientes con contraindicación para la ACO(9-11)

Estudio	Nº pacientes	Embolia esperada%/año	Embolia%/año	Sangrado esperado%/año	Sangrado %/años
PLAATO (5 años seguimiento)	64	6.6	3.8		
ASAP	150	7.3	1.7		
Amplatzer	1047	5.62	2.3	5.34	2.1

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

Bibliografía

1. Gillebert JP, Abdul-Samad O, Shapiro LM y col. Patent Foramen Ovale Closure in 2019. Interv Cardiol. 2019; 14 (1):34-41.
2. Kent DM, Ruthazer R, Weimar C y col. An index to identify stroke-related vs incidental patent foramen ovale in cryptogenic stroke. Neurology. 2013; 81 (7):619-625.
3. Turc G, Calvet D, Guérin P y col. Closure, Anticoagulation, or Antiplatelet Therapy for Cryptogenic Stroke With Patent Foramen Ovale: Systematic Review of Randomized Trials, Sequential Meta-Analysis, and New Insights From the CLOSE Study. J Am Heart Assoc. 2018 Jun 17;7(12).
4. Mir H, Siemieniuk RAC, Ge L y col. Patent foramen ovale closure, antiplatelet therapy or anticoagulation in patients with patent foramen ovale and cryptogenic stroke: a systematic review and network meta-analysis incorporating complementary external evidence. BMJ Open. 2018; 8(7).
5. Saver JL, Carroll JD, Thaler DE y col. Long-term outcomes of patent foramen ovale closure or medical

- therapy after stroke. *N Engl J Med.* 2017; 377:1022-1032.
6. Sondergaard L, Kasner SE, Rhodes JF y col. Patent foramen ovale closure or antiplatelet therapy for cryptogenic stroke. *N Engl J Med.* 2017; 377:1033-1042.
 7. Mas JL, Derumeaux G, Guillon B y col. Patent foramen ovale closure or anticoagulation vs. antiplatelets after stroke. *N Engl J Med.* 2017; 377:1011-1021.
 8. Nishimura M, Sab S, Reeves R y col. Percutaneous left atrial appendage occlusion in atrial fibrillation patients with a contraindication to oral anticoagulation: a focused review. *EP Europace.* 2018;20(9):1412-1419.
 9. Block PC, Burstein S, Casale PN y col. Percutaneous left atrial appendage occlusion for patients in atrial fibrillation suboptimal for warfarin therapy: 5-year results of the PLAATO (Percutaneous Left Atrial Appendage Transcatheter Occlusion) study. *JACC Cardiovasc Interv.* 2009; 2(7):594-600.
 10. Reddy VY, Mobius-Winkler S, Miller MA y col. Left atrial appendage closure with the Watchman device in patients with a contraindication for oral anticoagulation: the ASAP study (ASA Plavix feasibility study with Watchman left atrial appendage closure technology). *J Am Coll Cardiol.* 2013;61(25):2551-6.
 11. Tzikas A, Shakir S, Gafoor S y col. Left atrial appendage occlusion for stroke prevention in atrial fibrillation: multicenter experience with the AMPLATZER Cardiac Plug. *EuroIntervention.* 2016; 11(10):1170-9.
 12. Chen S, Weise F, Chun K y col. Antithrombotic strategies after interventional left atrial appendage closure: an update. *Expert Review of Cardiovascular Therapy,* 16(9), 675-678.
 13. Kirchhof P, Benussi S, Kotecha D y col. ESC Scientific Document Group, 2016 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS. *European Heart Journal.* 2016 October 7;37(38):2893-2962.
 14. Gasperetti A, Fassini G, Tundo y col. A left atrial appendage closure combined procedure review: Past, present, and future perspectives. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2019 May 1. doi: 10.1111/jce.13957.



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.

Desafíos diagnósticos y terapéuticos en las neoplasias mieloproliferativas/ mielodisplásicas: dudas y certezas clinicopatológicas

Diagnostic and therapeutic challenges in myelodysplastic/ myeloproliferative neoplasia: clinicopathological doubts and certainties

Gonzalez J¹, Vijnovich Baron A², Varela AI³

¹Hospital Durand, ²CEPACIT, ³Hospital JM Ramos Mejía

anainesvarelap@gmail.com



**DIFICULTAD
DIAGNOSTICA
Y TERAPÉUTICA DE
LOS SÍNDROMES DE
SUPERPOSICIÓN MIE-
LOPROLIFERATIVOS/
MIELODISPLÁSICOS**

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 221-229
Octubre 2019

Palabras claves: neoplasia mieloproliferativa/mielodisplásica, superposición, mutaciones.

Keywords: myeloproliferative/myelodysplastic-neoplasia, overlap, mutations.

Introducción

Las neoplasias mieloproliferativas crónicas se originan en una célula madre pluripotente linfoide-mieloide o, en ocasiones, de un progenitor mieloides más encaminado en su diferenciación, dando lugar a diferentes desórdenes con rasgos proliferativos y a otros con hematopoyesis displásica. Para su clasificación la Organización Mundial de la Salud (OMS) divide dos categorías de manifestaciones clínicas evidentes, las neoplasias mieloproliferativas (NMP) y los síndromes mielodisplásicos (SMD), y una categoría con características superpuestas de ambas denominada neoplasias mieloproliferativas/mielodisplásicas (NMP/NMD)⁽¹⁾ o "síndromes de superposición mielodisplásicos/mieloproliferativos". Este último es un grupo heterogéneo de entidades patológicas no muy frecuentes que, incluso en manos de expertos, suele plantear dificultades en la toma de decisiones tanto en su clasificación diagnóstica como al

momento tomar decisiones de manejo.

Las características superpuestas con otras neoplasias mieloides como SMD y NMP complica la tarea de diagnóstico de las NMP/NMD. Durante la última década el avance en el conocimiento de la biología subyacente de las neoplasias hematológicas ha permitido establecer más claramente los criterios de diagnóstico, modelos de estratificación de riesgo, y planteo de estrategias de tratamiento. La identificación de las principales vías genéticas implicadas en su patogenia determina la etiología clonal, aunque la mayoría aún no está disponible en la práctica diaria. Estos conocimientos han permitido en algunos casos el beneficio clínico de terapias específicas disponibles en Argentina, jerarquizando la importancia de ser riguroso en el estudio de los pacientes que las padecen. Se espera que la mayor comprensión de la patogenia molecular permita el desarrollo de nuevas terapias moleculares dirigidas.

Sin embargo, aunque se ha avanzado mucho en la comprensión de la patogenia molecular, las entidades incluidas en el grupo de NMP/NMD son definidas clinicopatológicamente. La mayoría de la veces solo pueden ser diagnosticadas con precisión por un enfoque multidisciplinario cuidadoso que se basa en la integración de hallazgos clínicos y de laboratorio, con especial atención a la morfología de sangre periférica, la evaluación de la citología e histología de médula ósea, complementadas con estudios moleculares. La morfología es una herramienta esencial en el proceso diagnóstico por lo que su naturaleza subjetiva demanda la constante e irremplazable tarea de utilizar el microscopio en forma regular en la práctica de la Hematología. Esto garantizará la experiencia para evaluar cada caso para lograr una clasificación correcta desde el inicio de la enfermedad. La característica de aspectos mieloproliferativos y mielodisplásicos en un paciente que, además, pueden variar en la evolución de estas neoplasias, suele motivar una completa revisión del material original e incluso la repetición de estudios diagnósticos en la evolución de la enfermedad. Todo esto sólo se puede lograr mediante una colaboración estrecha entre el hematopatólogo, el biólogo molecular y el hematólogo clínico, siendo la mayoría de los diagnósticos verdaderamente definidos en colaboración. Con este enfoque es que se revisan en forma multidisciplinaria las dudas y certezas clínicas, de anatomía patológica y aspectos moleculares de este grupo de entidades.

Dudas y certezas clínicas en NMP/MD

Los síndromes de superposición mieloproliferativos/mielodisplásicos se describieron por primera vez como una entidad separada en la tercera edición de la clasificación de la OMS en el año 2001. Hasta esa publicación, ante casos con características proliferativas y también displásicas, la controversia en cuanto a qué entidades eran meramente variaciones del mismo proceso de enfermedad y cuánta proliferación era aceptable para un diagnóstico de SMD dificultaba clasificar estas entidades. Para abordar el problema, reconociendo que la superposición entre SMD y NMP ocurre, la OMS creó la Categoría NMP/NMD que proporciona una visión menos restrictiva de estos trastornos mieloides. Este nuevo enfoque, que reconoce las limitaciones de las antiguas clasificaciones morfológicas, ha proporcionado

un marco abierto que facilita la asimilación de nuevos conocimientos.

Tras un proceso de revisión, la 4ª edición publicada en 2008 agrupa diagnósticos con manifestaciones clínicas muy diferentes, genética a veces compartida y pronóstico diverso: la leucemia mielomonocítica crónica (LMMC), leucemia mielomonocítica juvenil (LMMCJ), leucemia mieloide crónica atípica (aCML), una subcategoría "por exclusión" definida como entidad NMP/NMD no clasificables (NMP/NMD-U), y que incluye una entidad provisional denominada anemia refractaria con sideroblastos en anillo y trombocitosis (ARSA-T)⁽²⁾.

En el año 2016 se realiza una nueva revisión de la Clasificación de las Neoplasias Hematológicas de la OMS⁽³⁾, sin grandes cambios en la definición de entidades, sino con la idea de incorporar los conocimientos científicos obtenidos luego de la publicación del 2008. Por ejemplo ARSA-T fue definida como entidad y cambió su nombre a NMP/MD con sideroblastos en anillo y trombocitosis (NMP/MD-SA-T). El umbral para la trombocitosis se redujo de $600 \times 10^9/L$ a $450 \times 10^9/L$ junto con la inclusión de criterios de médula ósea: presencia de grandes megacariocitos que se asemejan a los de trombocitemia esencial (TE)⁽³⁾. También se incorporan nuevos conocimientos moleculares. Sin embargo, a pesar de los avances, la clasificación actual define distintas entidades biológicas con características mielodisplásicas y mieloproliferativas, considerable heterogeneidad molecular, y la falta de especificidad de marcadores genotípicos sigue planteando dificultades al encontrarnos frente a un paciente con una de estas neoplasias.

¿Como orientarnos desde la clínica?

Las NMP/NMD son un grupo de neoplasias mieloides clonales en las que hay características de MDS y MPN. La superposición está presente en todos los niveles, incluidas las características clínicas, patogenia, mutaciones moleculares y opciones de tratamiento.

La concurrencia de características clínicas de SMD (disgranulopoyesis o diseritropoyesis con alguna citopenia) y de NMP (aumento de granulocitos, monocitos, eosinófilos, plaquetas u organomegalias) nos orienta en una primera evaluación del paciente. A diferencia de otras neoplasias, es claro que los recuentos no pudieron ser utilizados para clasificar-

las. Este problema se agrava aún más por el hecho de que las NMP clásicas en su evolución pueden mostrar características displásicas, o en ocasiones presentar monocitosis (ocasionalmente descrito en mielofibrosis primaria). Estos impedimentos aún exigen el descubrimiento de formas más objetivas de diagnosticarlas y condujo a la identificación de anomalías moleculares y citogenéticas. Aunque aún no se han encontrado anomalías que definan cada enfermedad, el conocimiento actual de estas aberraciones ofrece una mejor comprensión de la fisiopatogenia, es útil para el diagnóstico, como será detallado más adelante, y es un preludio para definir estos desórdenes en el nivel molecular en un futuro. La entidad más frecuente del grupo es la LMMC, se caracteriza por monocitosis persistente de más de $1 \times 10^9/L$, con un porcentaje de monocitos mayor al 10%. La monocitosis de más de 3 meses es adecuada para el diagnóstico, incluso en ausencia de displasia morfológica. Estos monocitos suelen ser de apariencia anormal con núcleos bizarros y gránulos citoplasmáticos. En algunos pacientes, las células sanguíneas identificadas inicialmente como monocitos son luego reconocidas como granulocitos inmaduros y displásicos. El reto en la práctica clínica es excluir otras causas de monocitosis. En ausencia de anomalías citogenéticas y mutaciones somáticas que, de estar presentes, apoyan la etiología clonal, se debe descartar si se trata de un proceso reactivo. La identificación de la subpoblación de monocitos CD14b+/CD16- por citometría de flujo es característica de LMMC, útil para distinguirla de las monocitosis reactivas u otras neoplasias mieloides. En el 93% de los casos se puede identificar un marcador clonal usando la secuenciación de próxima generación (*Next generation Sequencing* NGS) en sangre periférica o médula ósea, pero éste no es un método accesible en la práctica diaria en nuestro medio. Las características clínicas incluyen esplenomegalia, infiltración de piel y ganglios linfáticos, y derrame en serosas.

Otro desafío es diferenciar la LMMC de otras neoplasias mieloides que presentan monocitosis. Para definiciones diagnósticas la presencia de blastos y o promonocitos mayor a 20% corresponde a leucemia mieloide aguda (LMA). Los reordenamientos de PDGFR o FGFR1 definen neoplasias mieloides con reordenamiento de PDGFR / FGFR1⁽³⁾.

Para el diagnóstico de aCML la clave es descartar

la leucemia mieloide crónica por la ausencia del rearrreglo BCR / ABL por estudio citogenético, PCR o FISH. La presencia de displasia granulocítica característica de esta entidad nos orienta y permite distinguir esta entidad de otras NMP, así como presencia de más de 10% de precursores neutrófilos que la diferencia de la leucemia neutrofílica crónica⁽³⁾.

La MDS/MPN-SA-T tiene que ser sospechada en pacientes con anemia y trombocitosis. Puede ser confundida con la trombocitemia esencial si la anemia es leve y no se realizaron tinciones de hierro en la médula ósea para detectar la presencia sideroblastos en anillo que la define. Se describe más adelante la utilidad del estudio molecular en esta entidad.

La SMD/NMP-U sigue siendo la más difícil de diagnosticar, quedando una entidad definida como tal por las características clínico-patológicas compartidas de MDS y MPN, que no puede ser clasificado de otra manera.

Dudas y certezas sobre el aspecto anatomopatológico

Neoplasias mieloproliferativas / mielodisplásicas

El estudio de la anatomía patológica es uno de los pilares diagnósticos de las NMP/MD. Dado que presentan en forma simultánea características mieloproliferativas y mielodisplásicas, es fundamental que el patólogo cuente con datos clínicos básicos: edad del paciente, hemograma, aspectos citomorfológicos del aspirado de médula ósea, resultados de la citometría de flujo y de estudios moleculares. La integración de estos datos contribuye a una mejor interpretación de los hallazgos histológicos y redundará en beneficio del paciente⁽⁶⁾.

La médula ósea es hiper celular debido a proliferación de una o más líneas celulares mieloides. En periferia puede observarse citopenias y displasia de alguna línea celular en conjunto con leucocitosis, trombocitosis u organomegalia.

Leucemia mielomonocítica crónica

La biopsia de médula ósea (BMO) es hiper celular en más del 75% de los casos. El hallazgo más representativo es la hiperplasia mieloide y en algunos casos puede haber hiperplasia eritroide. La proliferación monocítica está invariablemente presente, sin embargo es muy difícil de distinguir y reconocer morfológicamente con las tinciones de rutina. La disgranulopoyesis y diseritropoyesis son más

notorias en el estudio citomorfológico de sangre periférica y aspirado de médula ósea. En el estudio histológico se pueden reconocer con facilidad las alteraciones de maduración, desviación a izquierda y cambios megaloblastoides de las progenies mieloides y eritroides, para lo cual se necesita de óptimas preparaciones histológicas. Lo más llamativo son las alteraciones dismegacariopoyéticas, núcleos hipolobulados, presencia de micromegacariocitos, los cuales están presentes en el 80% de los casos⁽⁷⁾. Un hallazgo frecuente, descrito hasta en el 20% de los casos, es la presencia de nódulos de células dendríticas plasmocitoides maduras. Son células pequeñas, de núcleos redondeados con amplio citoplasma y membranas citoplasmáticas evidentes, dando un aspecto cohesivo característico. Actualmente habría evidencia de que esta proliferación estaría clonalmente relacionada a la LMMC⁽⁸⁾.

La esplenomegalia se debe a infiltración de la pulpa roja por las células leucémicas. La linfadenopatía es muy poco común y cuando ocurre indicaría transformación a una fase aguda con blastos mieloides. En ocasiones puede ocurrir infiltración ganglionar difusa por células dendríticas plasmocitoides y en algunos casos la linfadenopatía generalizada, debida a proliferación de estas células, puede ser la primera manifestación de la LMMC⁽⁷⁾.

Las técnicas de reticulina evidencian un aumento significativo del retículo (MF 2-3) hasta en un 30% de los casos⁽⁹⁾.

Inmunofenotipo

El estudio de citometría de flujo de sangre periférica y médula ósea muestra fenotipos aberrantes de los monocitos con dos o más características aberrantes: disminución de la expresión de CD14, sobreexpresión de CD56, expresión aberrante de CD2, disminución de la expresión de HLA-DR, CD13, CD11c, CD15, CD16, CD64 y CD36.

El estudio inmunohistoquímico en tejidos es menos sensible que la citometría de flujo para la identificación de monocitos, siendo el marcador más sensible y específico el CD14, seguido del CD68 (PGM-1) y del CD163. El CD123 reconoce las células dendríticas plasmocitoides y el aumento de células CD34 puede evidenciar progresión de la enfermedad⁽⁷⁾.

Diagnostico diferencial

Monocitosis reactiva

La monocitosis reactivas típicamente no tienen alteraciones citogenéticas o moleculares. Los monoblastos y promonocitos no son conspicuos en las médulas óseas normales o reactivas. La expresión de dos o más antígenos aberrantes es más común en las neoplasias que en las monocitosis reactivas.

Leucemia mieloide aguda (LMA)

La diferenciación con LMA con diferenciación monocítica puede resultar un desafío en cuanto a distinguir entre monoblastos, promonocitos y precursores mieloides displásicos. En estos casos el perfil molecular puede ayudar en la distinción.

Mielofibrosis primaria (MFP)

La MFP puede mostrar monocitosis en el momento del diagnóstico o en el curso de la enfermedad. Por otra parte la presencia de fibrosis en la LMMC puede causar dificultades diagnósticas. En algunos casos pueden observarse verdaderas “zonas grises” con superposición de características entre MFP y LMMC⁽¹⁰⁾.

Leucemia mieloide crónica atípica BCR-ABL negativa

La BMO es hipercelular debido a la proliferación de neutrófilos y sus precursores. La relación mielo-eritroide suele ser mayor de 10:1.

Hay displasia mieloide y eritroide. La eritropoyesis y megacariocitopoyesis varía de caso en caso. Los megacariocitos suelen estar normales o aumentados, pero también pueden estar disminuidos en su número. Se observa dismegalocariopoyesis con núcleos hipolobulados y micromegacariocitos⁽¹¹⁾.

La trama reticulínica puede estar levemente aumentada en el momento del diagnóstico o en el curso de la evolución.

Inmunofenotipo

En esta entidad no hay características inmunofenotípicas específicas. Puede observarse aumento de monocitos con CD14, reconocer megacariocitos con CD61, si bien son claramente reconocibles con las coloraciones de rutina, y constatar mediante CD34 si hay aumento de blastos.

Diagnóstico diferencial

Leucemia mieloide crónica

La presencia de BCR-ABL, basofilia y eosinofilia y ausencia de displasia ayudan a diferenciar de esta entidad.

Leucemia neutrofilica crónica

Enfermedad rara. Presenta MO hipercelular, neutrofilia con más de 80% de segmentados según criterios de la clasificación WHO. No presentan displasia. En 90% a 100% de los pacientes está presente la mutación de CSF3R.

Síndromes mielodisplásicos

No se presentan con leucocitosis, suelen tener disgranulopoyesis, pero con citopenias. La relación mieloeritroide no suele ser tan alta.

Neoplasias mieloproliferativas (NMP)

La policitemia vera y mielofibrosis primaria en estadios avanzados pueden tener neutrofilia en el curso de la enfermedad. En estos casos hay antecedentes de NMP. Los megacariocitos se hallan aumentados con atipias propias de las NMP.

Las mutaciones típicas de las NMP son diferentes⁽¹¹⁾.

Neoplasia mieloproliferativa / mielodisplásica con sideroblastos en anillo y trombocitosis

La BMO es hipercelular y muestra hiperplasia eritroide debido a proliferación inefectiva. Se observan cambios megaloblastoides y otros cambios disritropoyéticos. Los sideroblastos en anillo se describen en los aspirados de médula ósea y son casi imposibles de detectar en las secciones histológicas. Puede haber displasia multilineal.

Los megacariocitos están aumentados y muestran características similares a los de las NMP Phi negativas⁽¹²⁾.

Una proporción de pacientes puede presentar fibrosis reticulínica.

Diagnostico diferencial

Los síndromes mielodisplásicos que cursan con trombocitosis, ej. síndrome 5q-.

En todo paciente con sospecha de NMP se debe realizar coloración para hierro en un aspirado medular.

Neoplasias mieloproliferativas / mielodisplásicas inclasificables

Estos casos se caracterizan por presentar proliferación inefectiva y / o displásica de una o más líneas celulares y, simultáneamente, proliferación efectiva con o sin displasia de otra u otras líneas celulares mieloides.

Estos casos pueden presentar anemia y leucocitosis pero sin monocitosis, sin trombocitosis y sin disgranulopoyesis, descartando los diagnósticos de las

NMP/MDS típicas.

La BMO es hipercelular con hiperplasia de una o todas las progenies y, simultáneamente, se observa más de 10% de displasia en al menos una línea celular. Los megacariocitos pueden mostrar características dismórficas en un 50% de los casos, el resto presenta una combinación de megacariocitos de tipo mielodisplásicos y mieloproliferativos⁽¹³⁾.

La trama reticulínica puede estar muy aumentada. Hay que diferenciar estos casos de los de progresión de una NMP a un NMP/MDS, en cuyo caso se habla de progresión a NMP/MDS-símil y no de NMP/MDS inclasificable.

En algunos casos es difícil definir desde la histopatología entre una mielofibrosis con cambios displásicos, una mielodisplasia con fibrosis y una NMP/MDS⁽⁶⁾.

Dudas y certezas sobre alteraciones moleculares de NMP/MD

La heterogeneidad clínica que presentan los NMP/MD puede ser atribuida a las mutaciones que se encuentran en las diferentes vías genéticas involucradas en su patogénesis. Estas mutaciones son las responsables de sus características tanto mieloproliferativas como mielodisplásicas. Sin embargo, ninguna mutación es específica para su desarrollo, ni para el diagnóstico de los NMP/MD⁽¹⁴⁾.

El análisis citogenético y las nuevas técnicas de determinación de polimorfismos genéticos de alta resolución (SNP-A) detectan anomalías en el 70% de los pacientes. Los pacientes con SMD/SMP comúnmente presentan aneuploidías (+8, +9, -7) y deleciones parciales (7q-, 13q-, 20q-) y una pequeña minoría presentan traslocaciones recíprocas que comprometen a genes de tirosina kinasa, así como también a genes con impacto por su capacidad de ser target terapéuticos como son: *PDGFRA*, *PDFRB* y *FGFR1*⁽¹⁴⁻¹⁵⁾.

La verdadera incidencia de mutaciones en SMD/SMP es aún desconocida, con las nuevas técnicas de *next generation sequencing* (NGS) han podido diagnosticarse más de 40 genes mutados.

Dentro de las alteraciones moleculares propiamente dichas, no sólo encontramos mutaciones, sino también alteraciones epigenéticas que alteran los mecanismos de reparación del ADN y, por lo tanto, su transcripción y traducción a proteínas, originando la patogénesis de la enfermedad mediante la supresión

o sobreexpresión de oncogenes⁽¹⁴⁾.

A partir de lo anteriormente mencionado podemos dividir a las mutaciones más frecuentes en 4 categorías:

- aquéllas que comprometen las vías de señalización,
- las que afectan el empalme
- las que afectan la transcripción
- las que provocan alteraciones epigenéticas.

Dentro de las alteraciones en vías de señalización que son comúnmente encontradas en SMP que conducen a desregulación de la proliferación y a alteración de los mecanismos apoptóticos, se encuentran:

- mutaciones en receptores de factores de crecimiento (*CRF3R*),
- mutaciones en vías de señalización (*JAK2*, *NRAS*, *KRAS*),
- mutaciones en reguladores negativos de la señal (*PTPN11*, *CBL*, *NFI*).

Los reguladores epigenéticos más frecuentemente afectados son el *TET2* y el *ASXL1*, aunque pueden aparecer otras alteraciones adicionales que incluyen el *ADH1/2*, *EZH2*, *DNMT3A*, *SUZ12*, *EED* y *UTX*. Tabla 1^(14,16).

Algunas de éstas juegan un rol verdadero en la patogénesis de la enfermedad y en el diagnóstico como ser: *JAK2*, *CBL*, *TET2*, *NRAS* que producen aumento en la señalización de STAT5 que es responsable de la hipersensibilidad a citoquinas como el GM-CSF, entre otras que estimulan la proliferación celular.

De esta forma algunas pueden ser más frecuentes en algunas entidades que en otras, contribuyendo así a su caracterización.

Los pacientes con leucemia mielomonocítica crónica (LMMC), presentan mutaciones somáticas en el 90% de los casos, entre las que se incluyen: *TET2* (50%-60%), *SRSF2* (40%-50%), *ASXL1* (35%-40%), y *RUNX1* (15%). Las mutaciones en las vías de señalización se correlacionan con las características proliferativas de esta patología. Las mutaciones de TP 53 son infrecuentes.

En leucemia mielóide crónica atípica (LMCa) se puede observar en un número incrementado de casos la presencia de *SETBP1*; esto la diferencia de la leucemia neutrofílica crónica que presenta la mutación del *CSFR3*, dicha mutación permite diferenciar ambas entidades donde en algunas ocasiones los as-

pectos clínicos se superponen.

En los pacientes con NMP/MD SA-T se observa la presencia de *SF3B1* en un 60 a 80%. Esta mutación, que afecta los mecanismos de empalme, se asocia a la presencia de sideroblastos en anillo y puede coexistir con la mutación del *JAK2* o *MPL1*. Esta entidad ejemplifica cómo las alteraciones moleculares presentes contribuyen a la naturaleza mielodisplásica y mieloproliferativa de estas neoplasias: *SF3B1* asociada a la presencia de sideroblastos en anillo es una característica frecuente en los síndromes mielodisplásicos, y el *JAK2* o *MPL* que está presente en un 60-80% sería responsable de la trombocitosis.

Los pacientes con NMP/MD-U suelen tener en más del 20%, *ASXL1*, *TET2*, *JAK2*, y *SRSF2* lo que permite determinar su naturaleza clonal⁽¹⁶⁾.

Si bien no se encuentra totalmente estandarizado y al alcance de todos los centros, el conocimiento de la presencia de marcadores clonales ha permitido reconocer y caracterizar a estas entidades de una forma más certera, mediante su asociación con las características clínico-patológicas de cada una de ellas. Tabla 1.

Las alteraciones moleculares se han incorporado a clasificaciones pronósticas, como ejemplo los índices pronósticos para LMMC, tanto el Modelo Molecular de la clínica Mayo que incorpora el *ASXL1* y más recientemente el CPSS Mol, que se encuentran en vigencia para evaluar la evolución de esta patología^(17, 18).

Si bien las alteraciones moleculares todavía no se encuentran disponibles en forma accesible en la práctica clínica, en un futuro serán las encargadas de disipar las dudas y establecer las certezas necesarias para mejorar el manejo de estas patologías, tanto para el diagnóstico como para el pronóstico y tratamiento.

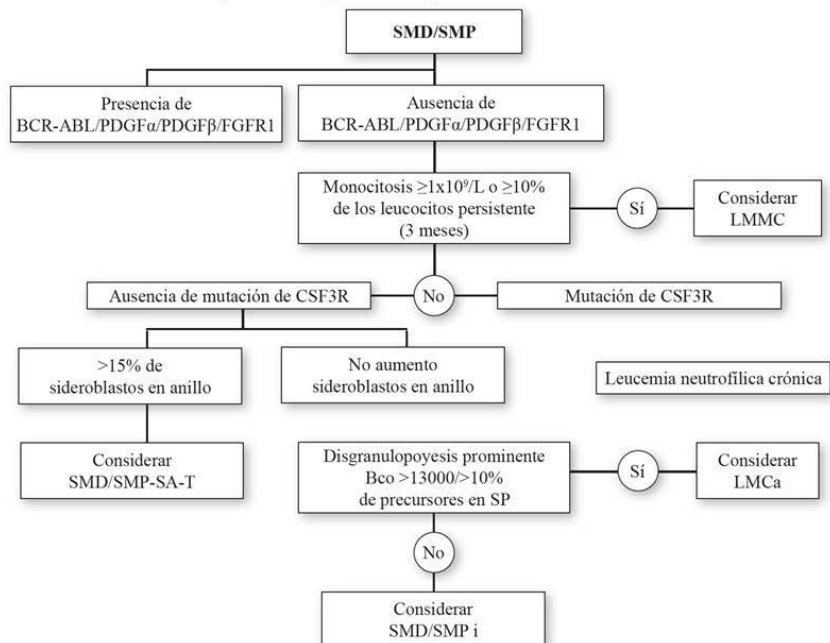
Tratamiento de los SMD/NMP

Las estrategias de tratamiento para NMP/MD se toman en gran parte de las terapias disponibles para SMD o NMP. Un paso crucial para el manejo adecuado es asegurar el diagnóstico correcto y la estratificación del riesgo. La decisión debe adaptarse a las manifestaciones y necesidades clínicas (mieloproliferativas o mielodisplásicas) que predominan en cada paciente. Esto resulta en una posibilidad heterogénea de tratamientos y / o intervenciones desde

Tabla 1

Via	Gen	Frecuencia %				
		LMMC	LMMJ	LMCa	SMD/SMP	SMD/SMP -SA-T
Señalización	K/N RAS	19	39	35	10	
	JAK2	8	0	4-8		57
	JAK3	N/A	12			
	MPL					5-20
	CBL	10	15	8	>10	4
	KIT	>5		>5		
	FLT3	1-3		5	3	
	CSF3R	0	0	<10	0	0
	SETBP1	6-15	8	48	10	1
	NOTCH2	Raro				
	PTPN11	<1	44	Raro		
	NF1	Raro	13	Raro		
	CALR	0	0	0	0	<1
Splicing ARN	SF3B1	6	0			93
	SFSR2	46	0			7
	U2AF1	5	0			
	ZRSR2	8	0			-1
Transcripció	RUNX1	15	0	6	14	
	CEBPA	4-20		4	4	
	NPM1	1-6		1	3	
	WT1	-1			-1	
	TP53	<1	0	Raro	Raro	
Complejo de coexina	STAG2	-10				
Metilación del ADN	DNMT3A	2	0	Raro	4	15
	TET2	58	0	30	30	25
	IDH1/2	6	0	Raro	5/10	
Modificadores de Histonas	ASXL1	40	0	69		15
	EZH2	5	0	13	10	
	SUZ12	>5		Raro	Raro	
	EED	>5		Raro	Raro	
	UTX	8-9				

Figura 1. Algoritmo diagnóstico utilizando variables clínico-patológicas y alteraciones mutacionales⁽¹⁸⁾.



drogas citorreductoras hasta fármacos para mejorar las citopenias.

La única opción curativa es el trasplante alogénico de médula ósea que debe ser valorado como opción en los pacientes de alto riesgo con buen estado funcional y sin comorbilidades significativas. Para los pacientes de bajo riesgo las conductas se determinan de acuerdo a los síntomas y no hay evidencias de que el inicio de tratamiento temprano altere la evolución natural de la enfermedad.

Para los pacientes con LMMC en los que predominan los síntomas mieloproliferativos como síntomas constitucionales o esplenomegalia, la hidroxiurea es una opción adecuada. La asociación de hidroxiurea y decitabina comparada con monoterapia con hidroxiurea se encuentra en estudio y hay evidencia de la eficacia de Ruxolitinib en los pacientes con LMMC, en quienes predomina esplenomegalia y síntomas constitucionales⁽¹⁹⁾. En los pacientes con citopenias la indicación son las drogas hipometilantes sin clara diferencia entre decitabina y azacitidina. Aunque en estudios retrospectivos las tasas de respuesta son mayores con la primera, no se han reportado diferencias significativas en la supervivencia global.

Las recomendaciones para la NMP/MD SA-T son similares a las de la trombocitemia esencial (aspirina, citorreducción) incluyendo además el uso de agentes eritropoyéticos, lenalidomida o hipometilantes para el manejo de la anemia⁽²⁰⁾.

No existe un tratamiento estandarizado para la

aCML y, como en otras neoplasias, la única opción curativa es el trasplante alogénico. El manejo sintomático se realiza con HU o IFN y se ha demostrado que dasatinib es activo en pacientes con mutaciones truncadas de *CSFR3* y ruxolitinib en casos con la mutaciones proximales⁽²¹⁾.

El manejo de los pacientes con NMP/MD-U es un verdadero desafío dado que, por la particular dificultad diagnóstica estos pacientes, suelen ser excluidos de la mayoría de los estudios clínicos. Como en otros casos, el manejo es sintomático, se debe considerar el trasplante alogénico en pacientes elegibles y algunos estudios sugieren beneficio con el uso de hipometilantes⁽²²⁾.

En conclusión, aunque aguardando con impaciencia una “base genética” que simplifique la tarea de clasificación libre de subjetividad morfológica, la clasificación de la OMS ofrece una herramienta valiosa en el diagnóstico y clasificación de NMP/MD. Sigue siendo una clasificación que es científicamente sólida y de valor clínico, y lo suficientemente flexible para ser utilizable en todo el mundo. El enfoque multidisciplinario es esencial para un diagnóstico certero que permita la correcta elección del tratamiento y un adecuado manejo.

Conflictos de interés: La Dra Ana Varela declara haber recibido honorarios por parte de Novartis por concepto de conferencias y actividades educativas en las que ha participado.

La Dra Anahí Vijnovich Barón declara haber recibido honorarios por parte de Novartis por concepto de conferencias y actividades educativas en las que ha participado. El resto de los autores declara no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

1. Vardiman J, Brunning RD, Arber DA et al. Introduction and overview of the classification of myeloid neoplasms. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW, editors. World Health Organization Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue. 4th ed. IARC Press: Lyon; 2008: p.18-30.
2. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 2009;114(5):937-951.
3. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Borowitz MJ, Beau MM Le, Bloomfield CD et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391-406.
4. Orazi A, Germing U. The myelodysplastic/ myeloproliferative neoplasms: myeloproliferative diseases with dysplastic features. *Leukemia*. 2008;22(7):1308-1319.
5. Selimoglu-Buet D, Wagner-Ballon O, Saada V et al. Characteristic repartition of monocyte subsets as a diagnostic signature of chronic myelomonocytic leukemia. Francophone Myelodysplasia Group. *Blood*. 2015

- Jun4;125(23):3618-26.
6. Geyer JT, Orazi A. Myeloproliferative neoplasms (BCR-ABL1 negative) and myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms: current diagnostic principles and upcoming updates. *Int Jnl Lab Hem.* 2016, 38 (Suppl. 1), 12-19.
 7. Orazi A, Bennet J, Germing U et al. Chronic myelomonocytic leukemia.. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H Thiele J (Eds): WHO Classification of Tumors of Hematopoietic and Lymphoid Tissues (Revised 4th edition). 2017, p 82-86 IARC: Lyon.
 8. Facchetti F, Cigognetti M, Fisogni S et al. Neoplasm derived from plasmacytoid dendritic cells. *Mod Pathol.* 2016, 29;98-111.
 9. Petrova-Drus K, Chiu A, Margolskee E et al. Bone marrow fibrosis in chronic myelomonocytic leukemia is associated with increased megakaryopoiesis, splenomegaly and with a shorter median time to disease progression. *Oncotarget.* 2017, Vol. 8, (No. 61), pp: 103274-103282.
 10. Boiocchi L, Espinal-Witter R, Geyer JT et al. Development of monocytosis in patients with primary myelofibrosis indicates an accelerated phase of the disease. *Modern Pathology.* 2013;26, 204-212.
 11. Orazi A, Bennet J, Bain B et al. Atypical Chronic myeloid leukemia BCR-ABL1- negative. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H Thiele J (Eds): WHO Classification of Tumors of Hematopoietic and Lymphoid Tissues (Revised 4th edition). 2017 p 87-89. IARC: Lyon.
 12. Orazi A, Hasserjian RP, Cazzola M et al. Myelodysplastic / myeloproliferative neoplasm with ring sideroblasts and thrombocytosis. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H Thiele J (Eds): WHO Classification of Tumors of Hematopoietic and Lymphoid Tissues (Revised 4th edition). 2017 p 93-94. IARC: Lyon.
 13. Orazi A, Bennet J, Bain B et al. Myelodysplastic / myeloproliferative neoplasm, unclassifiable. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H Thiele J (Eds): WHO Classification of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues (Revised 4th edition). 2017 p 95-96. IARC: Lyon.
 14. Haraprasad Pati, Karthika Kundil Veetil. Myelodysplastic Syndrome/Myeloproliferative Neoplasm (MDS/MPN) Overlap Syndromes: Molecular Pathogenetic Mechanisms and Their Implications. *Indian J Hematol Blood Transfus.* 2019 Jan-Mar;35(1):3-11.
 15. Mughal TI, Cross NCP, Padron E et al. An international MDS/MPN working group's perspective and recommendations on molecular pathogenesis, diagnosis and clinical characterization of myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Haematologica.* 2015;100(9):1117-30.
 16. Brianna N. Smith, Michael Savona, Rami S. Komrokji. Challenges in Myelodysplastic/Myeloproliferative Neoplasms (MDS/MPN). *Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia.* Volume 19, Issue 1, Pages 1-8
 17. Sanam Loghavi & Joseph D. Khoury. Recent Updates on Chronic Myelomonocytic Leukemia. *Current Hematologic Malignancy Reports.* 2018;13:446-454.
 18. Ragon BK, Savona MR. The Challenge of Treating Myelodysplastic Syndromes/Myeloproliferative Neoplasms. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2017;17(S1):S37-42.
 19. Padron E, Dezern A, Andrade-Campos M et al. A multi-institution phase I trial of ruxolitinib in patients with chronic myelomonocytic leukemia (CMML). *Clin Cancer Res.* 2016; 22:3746-54.
 20. Patnaik MM, Tefferi A. Refractory anemia with ring sideroblasts (RARS) and RARS with thrombocytosis (RARS-T) a "2017 update on diagnosis, risk stratification, and management". *Am J Hematol.* 2017; 92:297-310.
 21. Dao K-HT, Solti MB, Maxson JE et al. Significant clinical response to JAK1/2 inhibition in a patient with CS-F3R-T618I-positive atypical chronic myeloid leukemia. *Leukemia Res Rep.* 2014; 3:67-9.
 22. Hendrix K, Alali N, Padron E et al. Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms unclassified (MDS/MPN-U) overlap: can we alter the natural history? *Blood.* 2016; 128:3125.



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.

Valor de las pruebas de coagulación en la predicción del sangrado operatorio

Value of laboratory test in the prediction of perioperative bleeding

Vilaseca A.

Jefa de Hematología y Hemostasia Clínica San Camilo Buenos Aires Argentina

pacientesanticoagulados@gmail.com



**SIMPOSIO:
HEMOSTASIA
PERIOPERATORIA**

HEMATOLOGÍA
Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 230-238
Octubre 2019

Palabras claves: test coagulación,
sangrado,
predictor perioperatorio.

Keywords: coagulation test,
bleeding,
perioperative prediction.

El sangrado es una complicación reconocida y temida de los procedimientos quirúrgicos, asociada con mayor morbilidad, uso de recursos como la sangre, mayor necesidad de re-exploración y de procedimientos alternativos para controlar el sangrado⁽¹⁾.

A principios del siglo XX (1905), con la aparición de la publicación realizada por Morowitz, surge el concepto de la coagulación en 2 etapas: primera fase de conversión de la protrombina en trombina por acción del factor tisular en presencia de calcio y la segunda fase de conversión del fibrinógeno a fibrina. A mediados de los años 30', Armand Quick desarrolla una prueba de laboratorio que permitió corroborar la teoría de Morowitz, el tiempo de Quick o de protrombina (TP). El TP se caracteriza por el agregado al plasma de extractos tisulares (cerebro de conejo) y calcio para medir así la conversión de protrombina en trombina y, por su acción, la con-

versión de fibrinógeno en fibrina. Más tarde, para el estudio de la vía intrínseca se desarrolla el aPTT, prueba de recalcificación de plasma en presencia de fosfolípidos (sustrato plaquetario) y de un activador como el caolín.

Pese a los avances que se producen a partir de ese momento, muchos de ellos a partir del desarrollo del TP como el descubrimiento del factor V (acelerina) o el efecto de los dicumarínicos, queda arraigado en el colectivo médico el concepto que coloca al fibrinógeno como elemento final de la cascada de coagulación.

Es a mediados del siglo XX (época de oro de la hemostasia) que parece completamente dilucidado el mecanismo de la coagulación. Queda bien establecido el concepto de reacción enzimática en cascada con dos vías: una extrínseca que puede ser evaluada por el tiempo de Quick y otra intrínseca evaluada por el APTT (Figura A).

Se reconoce el rol de la contracción del vaso sanguíneo y las plaquetas en la formación del tapón hemostático, la necesidad de calcio, de un pH y temperatura determinados y se establece el concepto de destrucción del coágulo por acción de la vía fibrinolítica.

Desde entonces a la fecha los conocimientos en hemostasia avanzan a pasos agigantados. Hemos pasado de la cascada de la coagulación a la teoría celular de la hemostasia (Figura B), reconociendo el rol del endotelio, plaquetas, micropartículas, glóbulos blancos y rojos, factores procoagulantes y anticoagulantes y el altamente complejo sistema fibrinolítico que nos sigue sorprendiendo a la luz de los nuevos descubrimientos. Hoy ha quedado completamente dilucidado el rol del fibrinógeno (FI) al inicio del proceso hemostático estableciendo puentes interplaquetarios al unirse con las más de 40.000 moléculas de glicoproteína IIB IIIa expuestas por cada plaqueta durante el proceso de activación, así como su rol en la formación de la malla de fibrina y su importancia en determinar la calidad viscoelástica del coágulo. Para muchos especialistas en hemostasia el FI ha cambiado su categoría a sustrato del proceso hemostático.

Hemos aprendido que hay una diferencia significativa entre los niveles de los factores de coagulación considerados normales y los valores considerados hemostáticos, y que en algunos casos como el fibrinógeno no es igual ese valor *in vitro* (100 mg/dl) que *in vivo* (200 mg/dl).

Existe una percepción general sostenida dentro de la comunidad médica de que las pruebas de hemostasia pueden permitir la identificación de aquéllos que están en riesgo de hemorragia perioperatoria. Sin embargo, hay muy poca evidencia para apoyar esta suposición⁽²⁾. Hay varias buenas razones para la aparente falta de correlación entre los resultados de las pruebas de coagulación de rutina y el sangrado de pacientes sometidos a cirugía.

Éstas incluyen limitaciones generales y específicas⁽²⁾.

Limitaciones generales

- *Ensayos in vitro*: tanto el TP como el APTT son ensayos de laboratorio *in vitro* que miden el tiempo de formación de coágulos en un tubo de ensayo y requieren la adición de reactivos exógenos. La interpretación requiere precaución, ya que no reflejan con precisión la respuesta hemostática *in vivo*.

- *Variación biológica normal*: en la práctica de laboratorio, el rango "normal" generalmente se deriva de sujetos libres de enfermedad y se define como resultados que se encuentran dentro de las dos desviaciones estándar anteriores y por debajo de la media de la población normal. Por lo tanto, por definición, el 2-5% de los sujetos sanos tienen una coagulación prolongada. Esto llevará a que, en ausencia de información clínica relevante, se soliciten investigaciones adicionales innecesarias, generando demoras en la cirugía, ansiedad, aumento de costos y posibles daños emocionales.

Las pruebas de TP y APTT se diseñaron como pruebas de diagnóstico para confirmar la sospecha clínica de un trastorno hemorrágico⁽⁴⁾. Esto es diferente de su uso como pruebas de detección en poblaciones sanas donde la prevalencia de trastornos hemorrágicos insospechados es baja (Figura 1).

- *Insensibilidad a algunos trastornos hemorrágicos clínicamente importantes*: se puede pasar por alto una hemofilia A o enfermedad de von Willebrand (VWD). Aunque la prevalencia es mucho más baja, la deficiencia de factor XIII y la deficiencia de alfa2-antiplasmina pueden causar sangrado quirúrgico que amenaza la vida, con APTT y TP normales. Sin embargo, la mayoría de los pacientes tendrán un historial de sangrado positivo.

- *Artefactos debido a la recolección de muestras o condiciones patológicas*: la colocación prolongada de torniquetes, flebotomía difícil o traumática, volúmenes de muestra inadecuados, contaminación por heparina, almacenamiento prolongado, toma de muestras de una vía y falta de ajuste de la cantidad de anticoagulante cuando el hematocrito está significativamente elevado. La repetición de las pruebas con nueva muestra prestando atención a la técnica, e idealmente por venopunción directa, excluirá la mayoría de estos artefactos. Burk et al (1992) encontraron 35 resultados anormales (ya sea TP, APTT, o una combinación) en 1603 pacientes preoperatorios

Figura A

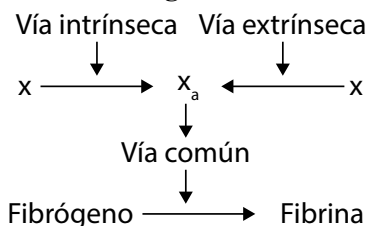


Figura 1. Pruebas tradicionales de hemostasia interpretación en el preoperatorio

TP	APTT	TT	FI	Plaquetas	Interpretación
N	N	N	N	N	Riesgo hemorrágico incierto (1)
A	N	N	N	N	Presencia de dicumarínicos Déficit de F VII Riesgo trombótico/hemorrágico?
N	A	N	N	N	Déficit de FVIII,IX,XI Presencia de Anticoagulante lúpico Contaminación con heparina Factor XII bajo Riesgo trombótico o hemorrágico
A	A	N	N	N	Déficit F V, X. Déficit F I o II Déficit de vitamina K Riesgo hemorrágico/trombótico
N	N	A	A	N	Hipofibrinogenemia leve a moderada Disfibrinogenemia Riesgo trombohemorrágico
A	A	A	A	N	Hipodisfibrinogenemia Riesgo trombohemorrágico
N/A	N/A	N/A	N/A	N	Error preanalítico hasta 70% de las muestras

1 Las pruebas normales no descartan en forma completa la enfermedad de von Willebrand ni el déficit de factor XIII.

TP: tiempo de protrombina; APTT: tiempo de tromboplastina parcial activado; TT: tiempo de trombina; FI: fibrinógeno.

N: normal, A: anormal.

prospectivamente seleccionados. Sólo 15 (43%) de estos resultados anormales persistieron en las revaluaciones 7-10 días más tarde.

Limitaciones específicas.

- *Variabilidad técnica APTT*: los dos factores principales son el uso de diferentes reactivos APTT y diferentes métodos de detección de punto final. Los reactivos APTT varían enormemente en su contenido de fosfolípidos y activador, lo que establece diferencias significativas en la sensibilidad de los reactivos a la deficiencia de factores e inhibidores, especialmente anticoagulantes lúpicos, pero también heparina y dabigatrán. Idealmente, para fines de selección, el ensayo debería/debe configurarse para detectar cualquier deficiencia clínicamente significativa del factor VIII (es decir, el límite inferior del rango normal para la población local, general-

mente entre 45 y 50 UI/dl). Sin embargo, algunas combinaciones de reactivo/instrumento resultan en la prolongación del APTT sólo cuando la concentración del factor VIII es inferior a 30 UI/dl, perdiéndose el diagnóstico de hemofilia A leve, pero clínicamente significativa. Además, la sensibilidad del APTT a las deficiencias de factores de la vía común, especialmente el fibrinógeno y la protrombina, es baja. Los valores de fibrinógeno por debajo de 60 mg/dl recién afectarán la prueba (Figura 2).

- *Enfermedad y/o variabilidad fisiológica*: las enfermedades clínicamente importantes pueden ser modificadas o enmascaradas por la respuesta fisiológica.

Por ejemplo, el factor VIII y el fibrinógeno aumentan notablemente en el embarazo y como reactantes de fase aguda. Esto da como resultado un acortamiento del APTT, que puede enmascarar la detec-

ción de hemofilia A y VWD leve.

Dos causas comunes de APTT prolongado en la población general son la deficiencia del factor XII y el inhibidor o anticoagulante lúpico, ninguna de las cuales se asocia a fenómenos hemorrágicos⁽⁴⁻⁵⁾.

TP

- *Variabilidad técnica*: las diferencias en la composición del reactivo dada por el Índice de Sensibilidad Internacional (ISI) pueden dar como resultado una variación interlaboratorio importante. Se aplican las mismas restricciones que en el APTT en la capacidad de detectar deficiencias de factores. Del mismo modo, algunas combinaciones de reactivos / instrumentos resulta en una prolongación del tiempo de coagulación sólo cuando un nivel de factor relevante cae a menos de 30 UI/dl.

- *Detección de trastornos que no están asociados con una tendencia al sangrado*: la prolongación del TP es una manifestación ocasional del anticoagulante lúpico.

Muchos laboratorios y profesionales reportan de forma conceptualmente inadecuada la INR en pacientes que no están tratamiento con dicumarínicos. El TP y el APTT no brindan ninguna información sobre la estabilidad y calidad viscoelástica del coágulo, la fibrinólisis, disfunción plaquetaria o actividad del factor de von Willebrand. A su vez, debe

considerarse la diferencia entre los valores de los factores considerados normales para la media poblacional, los valores hemostáticos y cómo repercuten éstos a su vez en las pruebas de laboratorio (Figura 2).

Por otra parte, ha mejorado la comprensión de los factores desencadenantes del sangrado, extendiendo su comprensión más allá de la hemostasia (Tabla 1)⁽³⁾.

El sangrado excesivo, mayor de lo esperado por el cirujano, es reportado en el 3% de todos los procedimientos. En el 75 a 90% de los casos, el sangrado intraoperatorio y postoperatorio temprano es resultado de un defecto técnico⁽⁶⁻⁷⁾.

No siempre es posible predecir si un individuo sangrará excesivamente durante la cirugía o después de la misma. Sin embargo, la historia de un paciente y el examen físico orientado a la detección de defectos hemostáticos son, con mucho, las mejores herramientas para predecir el sangrado quirúrgico⁽⁸⁻⁹⁾.

Tres grandes estudios examinaron el uso de pruebas hemostáticas preoperatorias y no encontraron correlación entre la coagulación preoperatoria y el sangrado quirúrgico debido, en un gran número de casos, a una preponderancia de errores preanalíticos y "alteraciones en las muestras" y, en otros como mencionamos más arriba, la presencia de "aparentes

Figura 2. Niveles hemostáticos de factores in vitro (tiempo de Quick y APTT normales) e *in vivo*

FACTOR	TP	APTT	IN VIVO
Fibrinógeno mg/dl	100	60	200
Factor II%	50	15	20
Factor V%	50	40	20
Factor VII%	50	NA	1
Factor VIII%	NA	35	40
Factor IX%	NA	20	50
Factor X%	60	25	20
Factor XI%	NA	30	20
Factor XII%	NA	20	0
Factor XIII%	NA	NA	5
vWF	NA	NA*	30

NA: no afecta; vWF: factor con Willebrand; Tp: tiempo de protrombina; APTT: tiempo de tromboplastina parcial activado.

Valores hemostáticos para situaciones de déficit de un factor único, no para situaciones de déficit multifactoriales como la hemodilución en sangrado quirúrgico. El déficit severo de vWF puede afectar el APTT por la disminución en la vida media del FVIII

anomalías en la hemostasia", como un anticoagulante lúpico o una deficiencia de FXII, que prolongan el APTT pero no están asociados con manifestaciones clínica de sangrado⁽¹⁰⁻¹¹⁾.

De 4.499 pacientes, hubo 85 sangrados durante la cirugía, el 70% de los cuales tenían pruebas normales de coagulación y de los 435 pacientes con pruebas anormales, el 97% no sangró.

La sensibilidad de las pruebas de cribado de coagulación tradicionales fue del 18% para hemorragia quirúrgica, con una especificidad del 90%; y un valor predictivo positivo de sólo 3% y predictivo negativo de 98%.

Una historia clínica personal y/o familiar de sangrado fue 12.5 veces más efectiva como predictor de sangrado intraoperatorio que las pruebas de laboratorio⁽¹²⁾. Cuando se profundizaron los estudios

de pacientes con pruebas anormales, se descartó la existencia de diátesis hemorrágica en dos tercios de los mismos⁽¹³⁾.

Las pruebas deben utilizarse para evaluar pacientes cuya historia indica una posible diátesis hemorrágica y para aquéllos sometidos a grandes cirugías, especialmente aquéllas con alto riesgo de sangrado, como los procedimientos que involucran el sistema nervioso central, la cirugía cardiopulmonar o la prostatectomía⁽¹⁴⁾.

Las pruebas de detección normales sin un interrogatorio y examen clínico adecuados, proporcionan una sensación falsa de seguridad, desconociendo que muchos trastornos de la coagulación no se detectan mediante exámenes de rutina y su contrapartida, la presencia de pruebas anormales sin un adecuado interrogatorio, lleva a conductas "transfusionales pro-

Tabla 1. Causas de sangrado en el perioperatorio

Por qué podría sangrar el paciente en el perioperatorio?	Repuestas posibles
La intervención quirúrgica en sí misma	Si bien los cirujanos son reticentes a considerar este factor, se la reconoce como la causa más probable de sangrado inesperado y debe ser considerada antes/y concurrente con otros posibles motivos de sangrado. Diferencias anatómicas sutiles son posibles entre los pacientes. Preservación inadecuada de las condiciones básicas para la hemostasia, por hipotermia no intencionada, manejo inadecuado del medio interno, hipocalcemia secundaria a hipotermia y acidosis.
Trastornos del colágeno	Síndrome de Ehlers Danlos Telangiectasia hemorrágica congénita
Drogas	Antitrombóticos: anti vitamina K (AVKA), Anticoagulantes de acción directa (DOACS) Antiagregantes. Antiinflamatorios Terapias herbales Otras drogas
Otros trastornos adquiridos	Enfermedad hepática, déficit de vitamina K, Insuficiencia renal, enfermedades hematológicas, tratamientos quimioterápicos. Trombocitopenia idiopática Inhibidores adquiridos de factores
Trastornos congénitos	Enfermedad de von Willebrand (el de mayor prevalencia) Déficit de factores, hemofilias A, B, C (Factor VIII, IX, XI) Enfermedades plaquetarias cualicuantitativas (ej tromboastenia de Glazmann) Desórdenes raros o de baja prevalencia como hipo/disfibrinogemia, déficit de factores individuales II, V, VII, X, XIII

filáticas innecesarias”.

Durante la última década, varias sociedades de anestesiología y hematología han publicado guías de evaluación hemostática preoperatoria^(15 y 16 y 17) en las que recomiendan que el riesgo de sangrado sea primero evaluado utilizando un interrogatorio estructurado personal y familiar además del examen clínico.

Al tomar un historial para detectar hemostasia anormal, se deben abordar las siguientes preguntas: (Tomado del índice HEMSTOP)⁽¹⁷⁾.

1. ¿Alguna vez ha consultado a un médico o ha recibido tratamiento por sangrado prolongado o inusual (como hemorragias nasales o heridas leves)?
2. ¿Presenta hematomas de más de 2 cm sin trauma o hematomas graves después de un trauma menor?
3. Después de una extracción dental, ¿ha experimentado alguna vez un sangrado prolongado que requiera una consulta médica / dental?
4. ¿Ha experimentado sangrado excesivo durante o después de una cirugía?
5. ¿Hay alguien en su familia que padece una enfermedad de la coagulación (como hemofilia, enfermedad de von Willebrand, etc.)?

Para mujeres:

6. ¿Alguna vez ha consultado a un médico o ha recibido un tratamiento por períodos menstruales prolongados o excesivo (píldora anticonceptiva, hierro, etc.)?
7. ¿Experimentó sangrado prolongado o excesivo después del parto?

La historia preoperatoria también debe evaluar medicamentos y consumo reciente de drogas y suplementos (Figura 3), así como una evaluación adecuada de situaciones clínicas que suelen afectar la hemostasia como:

- insuficiencia renal con uremia, con el consecuente deterioro de la función plaquetaria.
- disfunciones tiroideas: sangrado/trombosis.
- hemopatías ej. gammapatías: sangrado/trombosis.
- hepatopatías, hepatoesplenomegalia.
- presencia de petequias, hematomas, laxitud ligamen-

mentaria, cicatrices anómalas.

En los últimos años se ha popularizado y difundido el uso de técnicas viscoelásticas (tromboelastografía y tromboelastometría) en los escenarios de sangrado por trauma y manejo de sangrado en cirugías grandes como cirugía cardiopulmonar o trasplante hepático.

Estas pruebas se realizan en sangre entera y agregan mayor información a las pruebas tradicionales, pero igualmente de ninguna manera han sido validadas para utilizarlas como predictores preoperatorios de sangrado y sufren limitaciones (ej. falta de sensibilidad al von Willebrand, a los trastornos de la función plaquetaria). Su mayor utilidad es agregar una herramienta diagnóstica durante el sangrado activo, que permite una aproximación terapéutica más certera.

Sin ningún lugar a dudas, dentro del laboratorio de hemostasia irán adquiriendo un rol en nuevos escenarios y, muy probablemente, en la detección de pacientes con perfil protrombótico pese a pruebas tradicionales que pudieran hacer pensar lo contrario, pero debe quedar muy en claro que tampoco estas pruebas sirven de predictor de sangrado y que, en caso de estar alteradas, sólo deben tomarse medidas terapéuticas en caso de manifestaciones hemorrágicas en el paciente.

Para finalizar, debe quedar claro que las pruebas de laboratorio aisladas NO SON UN BUEN PREDICTOR DE SANGRADO. No nos avalan, salvo en caso de diátesis hemorrágicas diagnosticadas como hemofilia A o B, enfermedad de von Willebrand a tomar conductas terapéuticas “profiláticas”.

La recomendación de la mayoría de las Guías Internacionales de Hematología y Anestesiología⁽¹⁴⁻¹⁸⁾ es contar con un algoritmo (Figura 4) de evaluación del riesgo de sangrado preoperatorio que nos obligue a una entrevista adecuadamente estructurada para valorar los signos, síntomas y antecedentes, determinando de esta forma qué pacientes se beneficiarán con la realización de pruebas de laboratorio y dándoles además un contexto de interpretación a las mismas.

Figura 3. Drogas que pueden generar sangrado quirúrgico

	Droga	Receptor diana
Antiplaquetarios		
Prescriptos	ASPIRINA	COX1
	Clopidogrel, ticagrelol, cangrelol prasugrel	P1Y12
	Abciximab, tirofiban	GPIIb/IIIa(Receptor FI)
	Dipiridamol	PDE
	Cilostazol	PDE3
	Varopax	PAR1
Incidentales	AINES: ácido mefenámico, Ibuprofeno, diclofenac, indometacina, naproxeno, piroxicam	Inhibición reversible COX 1
	Antibióticos penicilina y cefalosporinas	Receptores plaquetarios, receptores de membrana/von Willebrand
	Expansores plasmáticos	Membranas plaquetarias
	Sustancias de contraste radiológico, antihistamínicos, psicotrópicos, agentes quimioterápicos anestésicos y narcóticos	Mecanismos varios
	Suplementos herbales, centella asiática, ginko, ginseng, etc.	Mecanismos varios
Drogas que afectan hemostasia		
Prescriptas	UFH, LMWH, dabigatrán, bivalirudina	Trombina
	UFH, LMWH, apixabán, rivaroxabán.	FXa
	Antagonistas de la vitamina K	F II,VII,IX,X
	Trombolíticos (t-pa, estreptoquinasa)	Fibrina/fibrinógeno
	Antifibrinolíticos EACA, ácido tranexámico	Plasminoógeno
Incidentales	Superwarfarínicos,	F II,VII,IX,X
	Suplementos herbales, especies etc	
	Expansores plasmáticos (dextranos, gelatinas)	

Figura 4. Algoritmo de evaluación preoperatorio

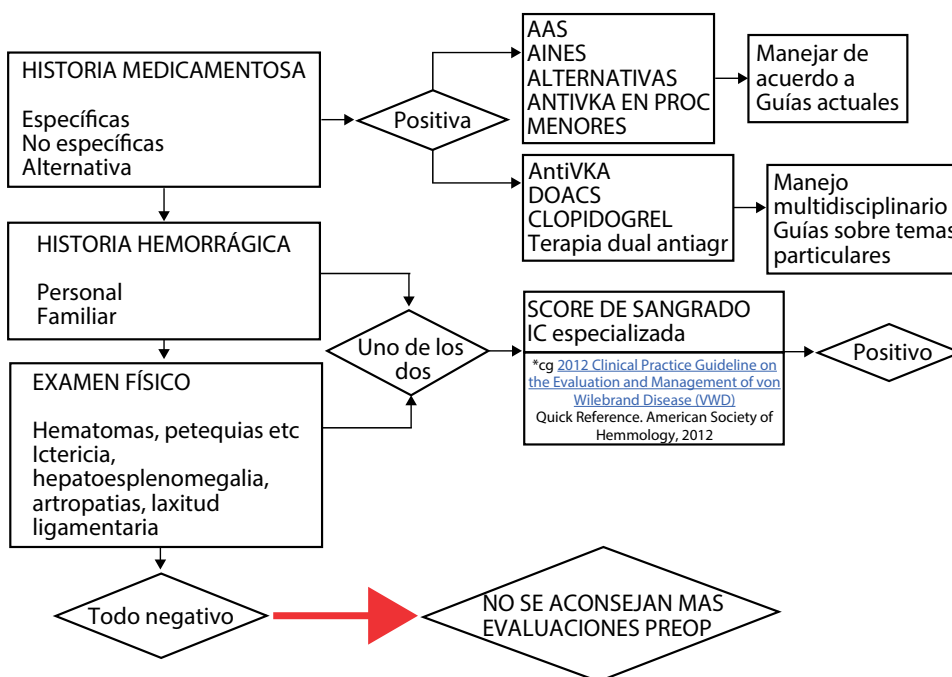
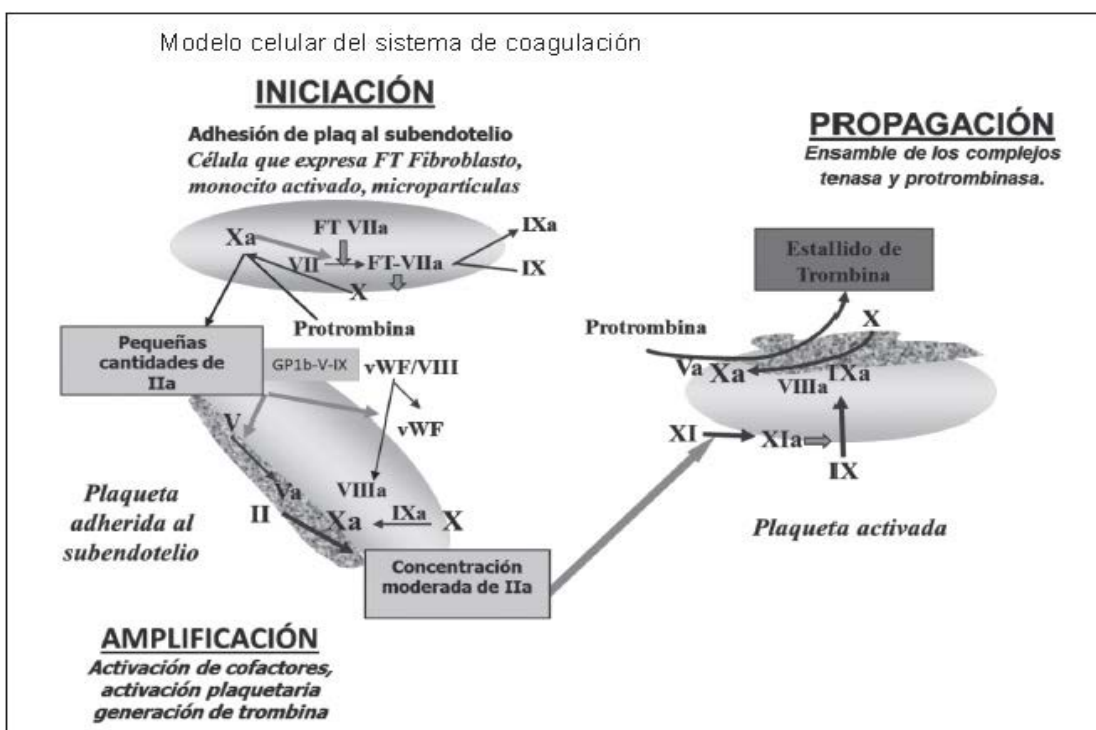


Figura B



Tomado de : Martinuzzo .M HEMATOLOGÍA Volumen 21 N° Extraordinario: 31-42
Fisiología de la hemostasia normal Agosto 2017

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

Bibliografía

1. Kedziora A, Wierzbicki K, Mazur P et al. Impact of postoperative bleeding on short-term outcome in patients after orthotopic heart transplantation: A retrospective cohort study. *Ann Transplant*. 2016; 21: 689-694.
2. Chee YL and Greaves M. Role of coagulation testing in predicting bleeding risk. *Hematol J*. 2003; 4: 373-378.
3. Jennifer Curnow, Leonardo Pasalic, Emmanuel J. Favalloro. Why Do Patients Bleed? *Surg J*. 2016;2:e29-e43.
4. Bidlingmaier C, Sax F and Kurnik K. Perioperative coagulation screening in children - Reasons and results. In: Scharrer I and Schramm W (ed.) 36th Hemophilia symposium Hamburg. Berlin, Heidelberg: Springer, 2005, pp.96-100.
5. Murphy E, MacGlone S and McGroarty C. A novel approach to improving coagulation sample ordering in an emergency department. *BMJ Qual Improv Rep*. 2015; 4: u204785-w2857.
6. Collins R, Scrimgeour A, Yusuf S, Peto R. Reduction in fatal pulmonary embolism and venous thrombosis by perioperative administration of subcutaneous heparin. Overview of results of randomized trials in general, orthopedic, and urologic surgery. *N Engl J Med*. 1988;318(18):1162-1173.
7. Bevan DH. Cardiac bypass haemostasis: putting blood through the mill. *Br J Haematol*. 1999;104(2):208-219.
8. Narr BJ, Warner ME, Schroeder DR, Warner MA. Outcomes of patients with no laboratory assessment before anesthesia and asurgical procedure. *Mayo Clin Proc*. 1997;72(6):505-509.
9. Bowie EJW, Owen CA Jr. The significance of abnormal preoperative hemostatic tests. *Prog Hemost Thromb*. 1980;5:179-209.
10. Suchman AL, Mushlin AI. How well does the activated partial thromboplastin time predict postoperative hemorrhage? *JAMA*. 1986;256(6):750-753.
11. Burk CD, Miller L, Handler SD, Cohen AR. Preoperative history and coagulation screening in children undergoing tonsillectomy. *Pediatrics*. 1992;89(4 Pt 2):691-695.
12. Bachmann F. Diagnostic approach to mild bleeding disorders. *Semin Hematol*. 1980;17(4):292-305.
13. Kitchens CS. Prolonged activated partial thromboplastin time of unknown etiology: a prospective study of 100 consecutive cases referred for consultation. *Am J Hematol*. 1988;27(1):38-45.
14. American Society of Anesthesiologists Task Force on Preanesthesia Evaluation. Practice advisory for preanesthesia evaluation: a report by the American Society of Anesthesiologists Task Force on Preanesthesia Evaluation. *Anesthesiology*. 2002;96: 485-96.
15. Chee YL, Crawford JC, Watson HG, Greaves M. Guidelines on the assessment of bleeding risk prior to surgery or invasive procedures. British Committee for Standards in Haematology. *Br J Haematol*. 2008; 140: 496-504.
16. Bonhomme F, Ajzenberg N, Schved JF, y col. Pre-interventional haemostatic assessment: Guidelines from the French Society of Anaesthesia and Intensive Care. *Eur J Anaesthesiol*. 2013; 30:142-62.
17. Bonhomme F, Boehlen F, Clergue F, Moerlooze, P. Preoperative hemostatic assessment: a new and simple bleeding questionnaire. *Can J Anesth/J Can Anesth*.
18. Kozek-Langenecker S, Ahmed A.B, Afshani A y col, Management of severe perioperative bleeding: guidelines from the European Society of Anaesthesiology *Eur J Anaesthesiol*. 2017; 34:332-395.



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.

Transfusiones plaquetarias en pacientes con desórdenes adquiridos de la función plaquetaria

Platelet transfusions in patients with acquired disorders of platelet function

Vellicce A, Arto P, García M, Cicero C, Portalez AP

**Departamento de Hemoterapia e Inmunohematología. Hospital de Clínicas José de San Martín Universidad de Buenos Aires. UBA.*

alevellicce@yahoo.com.ar



**SIMPOSIO:
HEMOSTASIA
PERIOPERATORIA**

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 239-246
Octubre 2019

Palabras claves: plaquetas,
transfusión de plaquetas,
hemocomponentes.

Keywords: platelet
platelet transfusion
blood components.

Resumen

Las plaquetas son partículas celulares esenciales para el normal desarrollo de la hemostasia y cumplen un rol protagónico, tanto en los desórdenes trombóticos como hemorrágicos⁽¹⁾. La transfusión de plaquetas es un gran desafío para el equipo de profesionales a cargo del paciente, debido a los tipos de productos disponibles, al vencimiento de las plaquetas, a la dosis requerida y las posibles reacciones adversas.

Abstract

Platelets are essential cell particles for the normal development of hemostasis and play a leading role in both thrombotic and hemorrhagic disorders⁽¹⁾. Platelet transfusion is a great challenge for the team of professionals in charge of the patient, due to the types of products available, the expiration of platelets, the required dose and possible adverse reactions.

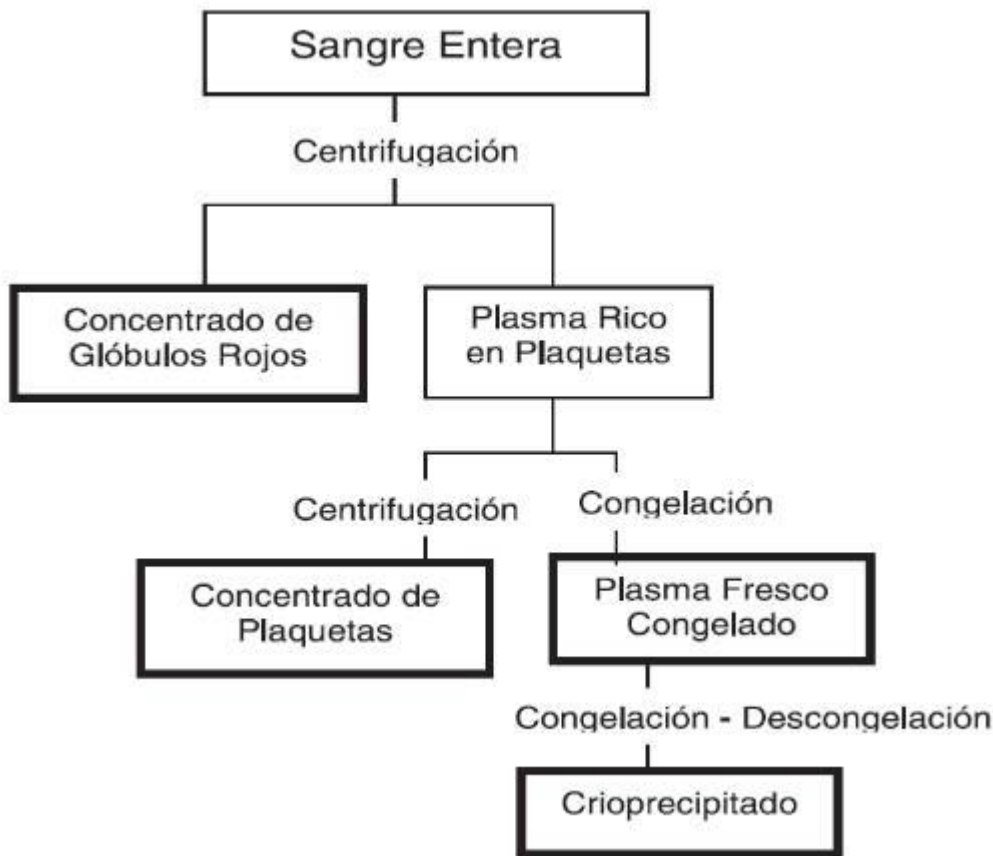
Introducción

Para realizar una transfusión se requieren donantes. Los bancos de sangre trabajan en la donación voluntaria altruista y repetida para proveer sangre segura en el momento, en cantidad y calidad que se necesitan.

Las plaquetas son elementos sanguíneos esenciales. Se considera normal una cifra de entre 150-400 x 10⁹/L⁽⁵⁾. Aunque en España se considera de 125 a 300 x 10⁹/L⁽⁴⁾.

La fuente de obtención de plaquetas pueden ser a partir de:

- a) donantes de sangre entera
- b) donantes de aféresis
- a) La separación de la sangre entera (SE) en sus componentes celulares y plasmáticos permite administrar al paciente sólo aquel componente que necesita y más de un paciente puede ser beneficiado por un solo donante.

Figura 1. Obtención de plaquetas de forma manual a partir de PRP⁽³⁾.

El procesamiento de una unidad de SE puede realizarse de diferentes maneras:

1. Manual:

a) PRP (Figura 1): obtención de plasma rico en plaquetas PRP y glóbulos rojos concentrados luego de una primera centrifugación.

b) *Recuperación de plaquetas a partir de la capa leucoplaquetaria o buffy coat*: se almacenan las unidades de sangre 24 hs. a temperatura ambiente (no menor a 20 °C). Este procesamiento tiene como ventaja una menor activación de las plaquetas durante el procesamiento. Luego se realizan *pools* de 4-6 unidades y nuevamente son centrifugadas. Esta metodología es utilizada en Europa y Canadá.

2. Semiautomatizado: luego de una primera centrifugación son separados por equipos que cuentan con sensores ópticos, detectando la interfaz celular, permitiendo la estandarización de los componentes, es utilizado en Europa.

3. Automatizado: produce concentrados de plaquetas a partir de donantes múltiples a partir de capa leucoplaquetaria.

b) De *Aféresis*: a través de un separador celular a partir de un donante único sólo se obtienen plaquetas.

Las plaquetas se conservan en plasma con un volumen aproximado de 50-70 ml las obtenidas a partir de PRP; las obtenidas a partir de capa leucoplaquetaria se conservan en plasma /solución aditiva (PAS) en relación de 35-65%.

En las plaquetas de aféresis el volumen promedio es de 300 ml (200-600 ml). Independientemente del método de obtención, los concentrados de plaquetas se almacenan a 22°C (±2°C) en agitación continua con el fin de preservar su función, durante un máximo de 5 días.

Este período puede ampliarse a 7 días si se combina un sistema de detección o reducción de la contaminación bacteriana⁽⁴⁾.

En caso de abrir el circuito de las unidades el vencimiento es de 4 hs.

El traslado a otros bancos de sangre se realiza sin agitación. Diferentes estudios in vitro demostraron que las plaquetas no se dañan si se conservan sin agitación por 24 hs. ni cuando se almacenan a 37°C

por 6 hs. y luego a temperatura ambiente por 18 hs. Las variaciones de temperatura y la falta de agitación impactan en la respuesta clínica pos transfusional⁽²⁾.

Indicaciones y recomendaciones de la transfusión de plaquetas

Los concentrados de plaquetas se transfunden para prevenir o tratar hemorragias en pacientes con defectos cualitativos y/o cuantitativos de las plaquetas. En la práctica clínica, el incremento del recuento plaquetario recomendado puede no lograrse incluso con dosis elevadas de plaquetas.

Transfusión profiláctica de plaquetas.

El riesgo de hemorragia en los pacientes con trombocitopenia grave es elevado, de forma que > 50% de los enfermos presentarán algún grado de sangrado, siendo la mayoría leves. Las escalas de gravedad, clasificadas por la OMS se detallan en la Tabla 1.

Las trombocitopatías adquiridas pueden ser causadas por distintas etiologías (Tabla 2).

La inhibición plaquetaria inducida por drogas puede tener objetivo terapéutico o ser un efecto colateral (Tablas 3 y 4). La incidencia de eventos de sangrado es similar en pacientes que reciben clopidogrel y aspirina en forma aislada y aumenta con la combi-

Tabla 1. Escala modificada de la OMS para definir la gravedad de las hemorragias.

Grados	Síntomas y signos
Grado 0	Ninguna
Grado 1 (hemorragia menor)	Petequias/equimosis Epistaxis/hemorragia oro faríngea < 30 min., en 24 hs. Hemorragia oculta en heces (de trazas a + 1) Hematoma espontáneo en tejidos blandos o músculos Hemorragia vaginal mínima
Grado 2	Melena, hematemesis, hemoptisis, hematuria, hematoquesia o hemorragia vaginal que no requiera transfusión de hematíes. Epistaxis/hemorragia Hemorragia en los sitios de punción o inserción Hemorragia retiniana sin alteración de la visión.
Grado 3	Melenas, hematemesis, hemoptisis, hematuria, hematoquesia o hemorragia que requiere transfusión de hematíes por encima de necesidades habituales. Hemorragia con inestabilidad hemodinámica moderada.
Grado 4	Hemorragia del SNC detectada por técnicas de imagen con o sin signos y síntomas neurológicos. Hemorragia que produce compromiso hemodinámico grave. Hemorragia fatal independientemente de la localización.

Tabla 2. Disfunciones plaquetarias adquiridas

Causas
Drogas
Suplementos dietarios
Alimentos
Síndromes mieloproliferativos
Paraproteínas
Ac. antiplaquetarios
Circulación extracorpórea
Insuficiencia renal

Tabla 3. Antiplaquetarios con efecto sobre el sangrado clínico

	Irreversibles	Reversibles
Inhibidores de la ciclo-oxigenasa-1 (COX-1)	Aspirina	Ibuprofeno, naproxeno, indometacina, diclofenac, ketoralac
Inhibidores del P₂Y₁₂	Ticlopidina, clopidogrel, prasugrel	Ticagrelor (ciclopentil-triazol-pirimidina)
Inhibidores de la GPIIb/IIIa	Abciximab	Eptifibatide, tirofiban
Otros	Cilostazol, dipiridamol, antibióticos β lactámicos, inhibidores de la recaptación de serotonina, dextrán, alcohol	

Tabla 4. Drogas sin efecto sobre el sangrado clínico

Drogas	Hierbas
Bloqueantes cálcicos	Ginkgo Biloba
Anestésicos regionales y generales	Ginseng
Beta-bloqueantes	Ajo
Antidepresivos tricíclicos	Jengibre
Nitratos	

nación. Los nuevos antiagregantes prasugrel y ticagrelor son más efectivos en la reducción de eventos trombóticos que el clopidogrel, pero incrementan el riesgo de eventos de sangrado.

Estudios randomizados sugieren que la incidencia de complicaciones de sangrado asociadas a inhibidores de P₂Y₁₂ dependen más de la intensidad de la inhibición que del tipo de droga usada.

Algunos suplementos dietarios, el alcohol y algunos alimentos pueden inhibir la función plaquetaria, aunque el significado clínico es poco claro; por lo tanto, se recomienda evitarlos en pacientes con alteraciones plaquetarias o defectos de coagulación conocidos⁽⁶⁾.

Indicación de transfusión profiláctica de plaquetas en trombocitopenias centrales

a) Pacientes **adultos estables** con trombocitopenia crónica de origen central.

Según lo recomendado por: Guías SETS

- “Se sugiere realizar transfusión profiláctica de plaquetas con cifras < 5 x 10⁹/L plaquetas”.

Esta actitud es válida para pacientes con síndrome mielodisplásico y anemia aplásica que no hayan presentado antecedentes hemorrágicos graves, que no estén en tratamiento activo y que no tengan fiebre (<38°C), ya que no existe ninguna evidencia del beneficio de la transfusión fuera de estas circunstan-

cias. Su finalidad es evitar o retrasar la aparición de refractariedad y otros posibles efectos secundarios. Se recomienda el control semanal en pacientes ambulatorios.

b) Pacientes **no estables** con trombocitopenia central aguda o crónica.

Se definen como **no estables** aquellos pacientes con fiebre (>38°C), con signos de hemorragia (≥ grado 2 de la OMS), con infección, leucocitosis, alteración de la coagulación (CID, fibrinólisis, tratamiento anticoagulante, etc.) que tengan áreas de necrosis, y aquéllos en los que la trombocitopenia sea de aparición rápida (descenso > 50% en 24 hs.).

Según lo recomendado por: Guías SETS

- “Se sugiere realizar transfusión profiláctica de plaquetas con cifras > a 20 x 10⁹/L en pacientes no estables con trombocitopenia central aguda o crónica (2B)”.

Por ello, es importante garantizar una detección precoz de los síntomas y signos que indican un aumento del riesgo hemorrágico, y en estos casos incrementar el umbral de transfusión a 20 x 10⁹/L.

Indicación de transfusión profiláctica de plaquetas en pacientes que van a ser sometidos a cirugía y/o procedimientos invasivos mayores

a) Pacientes que van a ser sometidos a cirugía y/o procedimientos invasivos mayores

Aunque realmente no existen ensayos aleatorizados que permitan establecer una guía basada en la evi-

dencia científica, hay publicaciones que determinan una mortalidad por cualquier causa entre el 13% y el 23% en el período perioperatorio en pacientes trombocitopénicos, y otras en las que la mortalidad por hemorragia fue del 0% en pacientes con leucemia sometidos a cirugía. En estas situaciones no sólo hay que tener en cuenta la cifra de plaquetas sino también el riesgo de hemorragia relacionada con el tipo y duración de la cirugía, la capacidad para controlar la hemorragia intraoperatoria, las posibles consecuencias de una hemorragia no controlada y la presencia de factores que puedan afectar a la función plaquetaria (fármacos, insuficiencia renal, etc.)

Según lo recomendado por: Guías SETS

- “Se sugiere realizar transfusión profiláctica de plaquetas para mantener la cifra de plaquetas $> 50 \times 10^9/L$ en pacientes trombocitopénicos que van a ser sometidos a procedimientos quirúrgicos y/o invasivos mayores”⁽⁴⁾.

En la **insuficiencia renal** el deterioro de la función plaquetaria se evidencia por prolongación del tiempo de sangría (TS). Si bien la diálisis es la medida más apropiada para mitigar el sangrado inducido por el incremento de la uremia, la corrección de la anemia, transfusional o con eritropoyetina, y la administración de DDAVP limitan el sangrado urémico. La eritropoyetina corrige la anemia reduciendo el sangrado, pero el efecto sobre las plaquetas puede ocurrir tempranamente por incremento del número de plaquetas reticuladas. El efecto de DDAVP es transitorio y estaría relacionado con el aumento de FVIII, VWF y adhesividad plaquetaria.

Los crioprecipitados (CRIO) son una opción en pacientes urémicos con alto riesgo de sangrado o sangrado activo. Tienen efecto sobre el TS dentro de las primeras 4 a 12 hs. Las desventajas son los riesgos transfusionales. La respuesta es impredecible.

Los estrógenos conjugados reducen la producción de óxido nítrico y promueven la reactividad plaquetaria. Se usan en dosis equivalentes a la usada en terapia hormonal de remplazo. Debe ser evaluado el riesgo trombótico en pacientes con patología cardiovascular⁽⁶⁾.

En pacientes sometidos a **cirugía cardíaca tipo by-pass coronario** no se recomienda la transfusión profiláctica de plaquetas, a menos que presenten una trombocitopenia con cifras $< 50 \times 10^9/L$. Esta recomendación incluye a pacientes que estén tomando

fármacos antiagregantes (AAS, inhibidores del receptor P2Y12) La transfusión de plaquetas en estos pacientes se ha identificado como un factor predictivo independiente de mortalidad, aunque es posible un sesgo de muestreo, ya que los pacientes que son transfundidos son lo más graves.

Según lo recomendado por: Guías SETS

- “**No se recomienda** la transfusión profiláctica de plaquetas en pacientes sometidos a cirugía cardíaca tipo *by-pass*, **excepto** en aquellos pacientes que presenten trombocitopenia con cifras $< 50 \times 10^9/L$ (2B)”

Los fármacos que alteran la función plaquetaria se han asociado a un aumento del riesgo de hemorragia. Sobre todo si no se suspenden con tiempo suficiente, según la vida media y/o con el tiempo necesario para la renovación de al menos del 30% de plaquetas, en el caso de alteración irreversible de la función. La administración profiláctica de plaquetas en estos casos no se ha demostrado eficaz en la disminución del riesgo hemorrágico y, por ello, la transfusión debe quedar relegada a aquellas situaciones de hemorragia activa no justificada por otras causas, y en caso de sangrado microvascular.

En el caso de intervenciones en territorios en los cuales, incluso pequeñas pérdidas hemáticas, pueden tener consecuencias graves, como por ejemplo en el globo ocular y en el sistema nervioso central, incluyendo la anestesia epidural, se recomienda transfundir si el recuento plaquetario es $< 80 \times 10^9/L$ (grado 2B).

Según lo recomendado por: Guías SETS

- “Se sugiere realizar transfusión profiláctica de plaquetas para lograr cifras de plaquetas $> 80 \times 10^9/L$ en pacientes trombocitopénicos que van a ser sometidos a procedimientos quirúrgicos y/o invasivos que conllevan un riesgo elevado de hemorragia en el SNC o globo ocular (2B)”.

b) Pacientes que van a ser sometidos a cirugía y/o procedimientos invasivos menores

Se incluye en estos procedimientos aquellas intervenciones en los que la hemorragia es fácilmente controlable mediante compresión u otras medidas tópicas, como la extracción dentaria, biopsia y cirugía cutánea. Dentro de esta indicación se incluye también la profilaxis para la colocación de un catéter venoso central (CVC) y la realización de una punción lumbar. En ambos procedimientos se han

publicado estudios observacionales en los que el riesgo de hemorragia mayor o igual grado 2 oscila entre el 0-9%, con cifras de plaquetas entre 15 y 100 x 10⁹/L. con y sin administración profiláctica previa a CVC y de 0% o al menos hemorragia no grave (hematoma espinal 2/86 pacientes) tras la punción lumbar.

Según lo recomendado por: Guías SETS

- “Se sugiere realizar transfusión profiláctica de plaquetas para lograr una cifra de plaquetas >20 x 10⁹/L. en pacientes trombocitopénicos que van a ser sometidos a procedimientos quirúrgicos y/o invasivos menores”.

Indicación de transfusiones profilácticas de plaquetas en pacientes con trombocitopenia periférica

En general, la transfusión profiláctica de plaquetas se reserva para los pacientes que presentan un defecto en la producción medular y muy raramente se necesita en las trombocitopenias secundarias a un aumento de la destrucción como en la púrpura trombocitopénica autoinmune (PTI), consumo elevado como en la púrpura trombocitopénica (PTT) y un síndrome urémico hemolítico (SUH) o a un recambio rápido como en la coagulación intravascular diseminada (CID) y la sepsis. En estas circunstancias se sugiere evitar la transfusión profiláctica (2C).

Según lo recomendado por: Guías SETS

- “Se sugiere evitar la transfusión profiláctica de plaquetas en pacientes con trombocitopenia periférica (PTI; PTT/SUH; CID, etc.) (2C).”

En pacientes con PTI reservar la transfusión para el tratamiento de hemorragias graves (grado 4), teniendo en cuenta que puede ser necesaria la transfusión de numerosas unidades, junto con otros tratamientos coadyuvantes (IgG EV y/o corticoides a altas dosis)

Transfusión terapéutica de plaquetas

La transfusión terapéutica de plaquetas se realiza cuando existe una alteración cuantitativa y/o cualitativa de las plaquetas y el paciente presenta una hemorragia atribuible al defecto plaquetario.

Según lo recomendado por: Guías SETS

- “Se sugiere transfundir plaquetas si existe hemorragia (grado 3 o 4) y el recuento de plaquetas es < 50 x 10⁹/L. en ausencia de

otros defectos funcionales. (1B)”

En la transfusión masiva y en pacientes politraumatizados, en los que se esperan cambios continuos y muy rápidos no sólo en la cifra de plaquetas sino también en los factores de la coagulación, la recomendación es mantener una cifra de plaquetas > 75 x 10⁹/L. Mientras que en pacientes con CID la actitud ante la presencia de hemorragia y trombocitopenia, tras tratar la causa de la misma y corregir los defectos de la coagulación, será mantener una cifra >50 x 10⁹/L de plaquetas.

Una situación especial lo constituye la cirugía cardiopulmonar con bomba extracorpórea, donde se produce una trombocitopenia dilucional y una alteración funcional transitoria de las plaquetas. La transfusión debe quedar reservada para aquellos pacientes con cifras bajas (<50 x 10⁹/L plaquetas) y que tras, finalizar la intervención, continúen con hemorragia microvascular no atribuible a la cirugía ni alteraciones de la hemostasia⁽⁴⁾.

Paraproteínas

Tanto en mieloma como en la macroglobulinemia de Waldenström, la disfunción plaquetaria se produce por la adhesión no específica de la inmunoglobulina a la superficie plaquetaria que dificulta la interacción agonista-receptor. En estas condiciones la transfusión de plaquetas es de eficacia limitada. La plasmaféresis es eficaz cuando se trata de una IgM.

Síndromes mielodisplásicos

El sangrado en los síndromes mielodisplásicos está asociado a múltiples mecanismos como activación plaquetaria y degranulación, defectos en los receptores de membrana, clivaje del VWF por proteasas, etc. Desde el punto de vista clínico recuentos superiores al millón de plaquetas se asocian a mayor riesgo de sangrado. La normalización del RP mejora la tendencia hemorrágica. La presencia de sangrado mayor es una indicación de tratamiento citorreductor⁽⁶⁾.

Refractariedad plaquetaria

Es la ausencia de respuesta a las transfusiones en dos determinaciones del CCI. Se detecta en el 10-20% de los pacientes.

1. Aproximadamente el 5-10% de los casos es debido a aloinmunización, secundaria a embarazo o transfusiones previas, y producido por anticuerpos

anti-HLA (clase I) y/o anticuerpos antiplaquetarios específicos (Human Platelet Antigen, HPA). En estos casos el CCI a la hora es de $<7,5$.

2. Mucho más frecuente es la refractariedad debida a factores no inmunes, siendo lo más común que el CCI a las 18-24 hs sea $<4,5$. Entre las causas habituales de refractariedad no inmune están la esplenomegalia, infección, hemorragia, CID, enfermedad venoclusiva hepática y la administración de ciertos fármacos, entre los que destacan anfotericina B, vancomicina, ciprofloxacina y heparina.

La refractariedad aloinmune se ha reducido de forma significativa mediante la leucorreducción y es posible que las tecnologías de inactivación de patógenos tengan un papel adicional.

El manejo del paciente con refractariedad aloinmune es complicado y requiere de un centro especializado

Se proponen varias estrategias (1C) que se han demostrado igualmente útiles, con respuestas en un 70-80% de los pacientes y que se usan en función de la disponibilidad.

1. Transfusión terapéutica (hemorragia $>$ grado 2 OMS).

2. Uso de plaquetas ABO compatibles, frescas (<3 días), obtenidas mediante aféresis de:

a) donante HLA compatibles: requiere la tipificación HLA de muchos donantes para encontrar compatibles.

b) donantes HLA parcialmente compatibles: amplía el número de donantes al agrupar antígenos HLA A y B, que comparten epitopes comunes.

c) HLAMatchmaker: selecciona según algoritmo de donantes HLA compatibles basado en que sólo tres aminoácidos (tripletes) constituyen los componentes críticos de los epitopes aloreactivos del HLA.

3. Prueba cruzada para plaquetas y selección de no reactivas.

Para aquellos pacientes con HLA infrecuentes o con pobre respuesta se ha intentado la utilización de inmunosupresores: inmunoglobulinas intravenosas, ciclosporina, vinblastina, entre otros fármacos.

Dosis

Aunque la dosis profiláctica óptima todavía no está bien establecida, el estudio PLADO muestra que los pacientes que reciben bajas dosis de plaquetas ($1,1 \times 10^{11}/m^2$ superficie corporal, SC) tienen el mismo riesgo hemorrágico que los que reciben dosis me-

dias ($2,2 \times 10^{11}/m^2$ SC) o altas ($4,4 \times 10^{11}/m^2$ SC). Las dosis bajas requirieron un mayor número de transfusiones, ya que a las 4 hs el CCI fue similar, pero se consiguieron incrementos menores. Las dosis altas no demostraron ningún beneficio, por lo que no se recomiendan.

- Se **recomienda** la administración de una aféresis de plaquetas o una mezcla de 4-6 unidades recuperadas como dosis para la transfusión profiláctica para un adulto. En el caso de los pacientes pediátricos la **dosis recomendada** es de $0,5 \times 10^{11}$ plaquetas por cada 10 kg peso, o aproximadamente 10-20 ml/Kg de peso (1B).

En condiciones normales, la transfusión a un adulto de una dosis terapéutica de plaquetas obtenida de donaciones de sangre total o bien por aféresis, causa un aumento en el recuento entre 30 y $50 \times 10^9/L$ plaquetas que puede ser valorado realizando un recuento plaquetario entre los 10 y 60 minutos después de finalizar la transfusión.

El rendimiento de la transfusión de plaquetas puede calcularse de forma más exacta mediante el cálculo del incremento del recuento corregido (CCI).

$$CCI = \frac{[(\text{Recuento post-transfusión} - \text{recuento pre-transfusión}) \times SC \text{ en } m^2]}{\text{Plaquetas transfundidas (x } 10^{11})}$$

Administración

No requieren prueba de compatibilidad eritrocitaria si el contenido de hematíes es inferior a 2 ml.

Si las plaquetas están conservadas en plasma, para la transfusión de neonatos o en casos de refractariedad es recomendable que la transfusión sea compatible entre el plasma del donante y los hematíes del receptor.

Para prevenir la aloinmunización Rh, tras la transfusión de plaquetas Rh positivas a mujeres en edad fértil y niñas Rh negativas, se recomienda la administración de una dosis de inmunoglobulina anti-D (50 μg), dicha profilaxis permite hasta 5 administraciones de plaquetas Rh incompatibles durante 6 semanas.

La transfusión debe realizarse a través de un filtro de 170-200 μm . Se realizará tan rápidamente como sea tolerada por el receptor, por lo general entre 20 y 30 minutos. El tiempo de transfusión nunca debe excederse por más de 4 hs, para reducir el riesgo de contaminación bacteriana del producto⁽⁴⁾.

Previo al inicio de la transfusión

Solicitud de la transfusión

La identificación inadecuada del paciente puede ocasionar transfusiones incompatibles. Errores en el proceso de solicitud de la transfusión pueden ocasionar la preparación de una unidad para el paciente equivocado.

El médico a cargo del paciente debe:

- Determinar la necesidad del paciente de recibir componentes de la sangre, basándose en los criterios establecidos por el comité de transfusiones, o por las guías nacionales vigentes.
- Hacer firmar el consentimiento informado para la transfusión
- Confeccionar la solicitud de la transfusión que debe contener:

1. Todos los datos requeridos en la misma (nombre, edad, sexo, procedencia, diagnóstico de base y diagnóstico por el cual se indica la transfusión, etc.).
2. Etiqueta de identificación del paciente, si es norma de la institución.
3. La firma y sello del médico solicitante.
4. Registrar en la historia clínica del paciente y en la hoja de indicaciones médicas de enfermería la indicación de la transfusión. Las solicitudes telefónicas sólo deberán ser aceptadas en caso de situaciones de extrema urgencia (pacientes en shock hipovolémico severo por sangrado masivo). En estos casos la solicitud de transfusión completa deberá entregarse tan pronto como sea posible.

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

Bibliografía

1. Bermejo E. Fisiología de la hemostasia normal. Plaquetas. Hematología. 2017;21(Extraordinario):10-18.
2. Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología. Extracción de sangre entera y procesamiento de hemocomponentes. Manual Técnico. 2012;17ª edición:222-230.
3. Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología. Guías nacionales para el uso apropiado de la sangre y sus componentes. 2007;33(3-4):295-309.
4. Sociedad Española de Trasfusión Sanguínea y Terapia Celular. Guía sobre transfusión de componentes sanguíneos y derivados plasmáticos. 2015. 5ª edición. 65-79.
5. MA Agustino, Piqueras, M Pérez Recuento de plaquetas y volumen plaquetario medio en una población sana. Rev. Diagn Biol. 2002;51(2):51-53.
6. Grupo Cooperativo Argentino de Hemostasia y Trombosis. Desórdenes plaquetarios. Guía de sangrado. Diagnóstico y tratamiento. 2016;Cap. 8: 143-164.

Monitoreo del paciente

El control del paciente debe realizarse antes, durante y posterior a la transfusión a fin de detectar precozmente cualquier evento adverso asociado.

Ante la sospecha de una reacción adversa asociada a la transfusión:

- detener la transfusión
- comunicarse con el servicio de hemoterapia
- mantener la vía endovenosa permeable
- tomar signos vitales
- tomar identidad del paciente/etiqueta de la unidad
- conservar la unidad
- comenzar el tratamiento pertinente⁽³⁾

Abreviaturas

AABB	Asociación Americana de Bancos de Sangre.
Ac	Anticuerpos
CID	Coagulación intravascular diseminada.
CRIO	Crioprecipitados
CVC	Catéter venoso central
DDAVP	Desmopresina
PRP	Plasma rico en plaquetas
SE	Sangre entera.
SC	Superficie corporal
RP	Recuento plaquetario
TS	Tiempo de sangría.
VWF	Factor de von Willebrand



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.

Anticoagulantes orales directos (DOACs) en el perioperatorio

Perioperative management of direct oral anticoagulants (DOACs)

Korin J

*Consultorios de Estudios Hematológicos.
Sanatorio de los Arcos. Buenos Aires. Argentina.*

jkorin2009@hotmail.com



**SIMPOSIO:
HEMOSTASIA
PERIOPERATORIA**

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Número Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 247-252
Octubre 2019

Palabras claves: anticoagulantes orales directos,
perioperatorios,
manejo de anticoagulación.

Keywords: direct oral anticoagulants,
surgery,
management.

El escenario: Sala de Emergencia o Quirófano.

Los actores: Médico de Guardia. Cirujano. Anestesiista. Hematólogo de guardia pasiva o el que habitualmente sigue la anticoagulación del paciente. Paciente con indicación quirúrgica.

La situación: cirugía programada o de emergencia.

Género: desenlace feliz (comedia donde todos los roles de los actores se desarrollan en forma satisfactoria) o drama de desenlace funesto donde los errores de los actores llevan a graves complicaciones que pueden originar la muerte del paciente (más por mala praxis que por designio de los dioses).

Herramienta necesaria: anticoagulante oral directo mal empleado.

Los DOAC poseen características ventajosas para la vida diaria del paciente:

- 1) las dosis son fijas, lo que aporta simplicidad a la prescripción.
- 2) el efecto anticoagulante es predecible, no es ne-

cesario el monitoreo del mismo para ajuste de dosis. 3) la acción terapéutica es inmediata. En caso de períodos sin anticoagulación éstos son breves y no requieren habitualmente puenteo con heparina de bajo peso molecular (HBPM).

4) la vida media es breve, de alrededor de 12 hs, revirtiéndose espontáneamente la anticoagulación sin antídotos, con lo que la mayoría de las cirugías, excepto las emergencias, pueden realizarse con una interrupción corta de su administración.

Sin embargo, algunas de estas características pueden producir problemas cuando es necesaria la intervención quirúrgica, donde las ventajas pueden perderse o convertirse en desventajas:

- 1) Los nombres de estos agentes son aún poco conocidos para los médicos no especialistas (médico de guardia, anestesiista, cirujano). La anamnesis es esencial para alertar al cuerpo médico sobre la presencia de un paciente anticoagulado que enfrentará

una cirugía. Durante más de 60 años sólo el acenocumarol y la warfarina en Argentina fueron sinónimos de anticoagulación oral. Si se interroga a un paciente que toma DOAC si recibe Sintrom o Coumadin dirá que no y, sin mentir al que lo interroga, estará en serios problemas.

2) Si no se conoce los blancos terapéuticos de estos agentes, no se pedirán las pruebas globales más sensibles para inferir si hay concentraciones terapéuticas que puedan producir hemorragia en la cirugía.

3) El hematólogo llamado telefónicamente en consulta necesita para opinar un correcto relevamiento de datos por el médico de guardia, especialmente nombre y cantidad de mg del DOAC que recibe el paciente y horario de la última toma.

4) La vida media corta del DOAC se prolonga si, por hemorragia o hipotensión, se produce fallo pre-renal, aunque el paciente tenga creatinina normal en controles previos. Debe solicitarse una depuración de creatinina con fórmula de Cockcroft-Gault.

5) La medición de la concentración de DOAC no está disponible en la mayoría de los hospitales, y la derivación de la muestra y el retraso para obtener el resultado la vuelve impráctica en emergencias.

6) La concentración de DOAC al momento de la cirugía correlaciona sobre todo con el intervalo horario desde la última dosis recibida y la magnitud de la eliminación renal del DOAC que toma el paciente más el deterioro de la función renal producida por la emergencia quirúrgica.

7) Los dicumarínicos tienen un rango terapéutico estrecho con INR entre 2 y 3, mientras que los DOAC tienen niveles terapéuticos muy amplios que no tienen necesariamente correlación precisa con efectividad y seguridad (ver Tabla 1).

8) Las pruebas globales (T. Quick y aPTT) son asumidas por el equipo quirúrgico como un aval en caso de normalidad para proceder a la cirugía. Esto no es válido para los DOAC. El aPTT en el caso de dabigatrán, puede ser normal y, sin embargo, en el 20% de los casos el paciente estará con niveles terapéuticos. El T. Quick tiene una correlación muy escasa con los niveles de apixabán y en el caso de rivaroxabán es muy dependiente de la sensibilidad de la tromboplastina empleada en la prueba.

9) En el postoperatorio, el íleo puede producir un retraso en el reinicio de la anticoagulación oral con DOAC, justificando, en caso de alto riesgo trombótico, puenteo con HBPM.

10) El médico acostumbrado a indicar reinicio de dicumarínicos a la noche de la cirugía dado el bajo riesgo hemorrágico por el prolongado período de latencia para lograr anticoagulación con ellos (3-5 días), debe conocer que si emplea DOAC en el postoperatorio cercano producirá un efecto completo y riesgo hemorrágico a partir de las 3 hs de la toma.

¿Cuál es la frecuencia con que se presenta en la práctica habitual esta intercorrelación que altera las ventajas de los DOAC?

En USA, cada año se registran 250.000 suspensiones temporarias de anticoagulación por requerimientos quirúrgicos o invasivos. Dada la penetración en el mercado de los DOAC, en Norteamérica el 50% de estos pacientes estarán recibiendo DOAC. Incluso en condiciones de estudios randomizados con pacientes mucho más sanos que los de la vida diaria, en el estudio RE-LY con dabigatrán en fibrilación auricular (FA) 25% de los pacientes durante el tiempo de observación de 2 años tuvieron una cirugía o intervención que obligó a suspender el DOAC o la warfarina. Es interesante que, pese a no contar con idarucizumab como antídoto durante esos años, el sangrado mayor y la mortalidad relacionada a estos eventos no fueron diferentes entre DOAC y dicumarínicos. Sin embargo, en los pacientes con dabigatrán los pacientes a los que se les prescribió puenteo con HBPM tuvieron casi 4 veces más sangrado mayor (6.5%) que los que no recibieron puenteo (1.8%).

¿Cómo minimizar el riesgo hemorrágico que produce tener concentraciones residuales terapéuticas de DOAC en una cirugía programada?

La técnica más empleada es emplear la farmacocinética predecible de estos agentes de manera de llegar al acto quirúrgico con una suspensión individualizada que disminuya los riesgos hemorrágicos. Sin mediciones de concentración plasmática y sin puenteo excepto en pacientes con muy alto riesgo trombo-embólico (FA con embolia reciente o tromboembolismo venoso en el primer mes), los riesgos de eventos trombo-embólicos con DOACs suspendidos de esta manera son de 0.6-1% y los riesgos de sangrado 0.9-1.3%. Las cifras son suficientemente bajas como para que una medición preoperatoria del nivel de droga activa sea probablemente incapaz de mejorarlas. Además, el tiempo más breve de interrupción de anticoagulación al suspender DOACs, en comparación con warfarina, hace innecesario el empleo de puenteo con HBPM. Datos de registro muestran que con puenteo con HBPM el riesgo

de trombosis fue 1.6% y el de sangrado mayor 2.7%, mientras que sin puenteo las cifras bajaron a 0.8% y 0.5% respectivamente.

La Tabla 1 describe las características farmacológicas más importantes y la Tabla 2 sintetiza los intervalos preoperatorios sugeridos para cada agente, según función renal del paciente y riesgo de sangrado por el procedimiento.

El segundo método es la medición preoperatoria de la concentración plasmática de DOACs para asegurar un nivel menor de <50 ng/ml. Otros autores fijan en 30 o menos la concentración deseable para evitar riesgo hemorrágico. Esta medición requiere medición de anti-Xa con calibrador específico para cada agente en el caso de rivaroxabán y apixabán y T. de ecarin o HEMOCLOT o similar para dabigatrán. Como se aprecia en la Tabla 1, las concentraciones en pacientes anticoagulados son muy amplias en el rango terapéutico. Mientras en USA ha predominado el método farmacocinético para inferir si el paciente puede ser o no intervenido, en Europa, sobre todo, consensos italianos y franceses insisten en la necesidad de contar con laboratorio que maneje estas pruebas las 24 hs del día y permita establecer, especialmente en el paciente con cirugía no programada, cuál es el riesgo hemorrágico. Dado que actualmente se cuenta con idarucizumab para dabigatrán y con andexanet para los DOAC anti-Xa (aunque éste no ha sido estudiado en prequirúrgicos sino en pacientes con sangrado), autores canadienses proponen que debe diseminarse la capacidad de los laboratorios para poder contar

con estas determinaciones y así evitar el uso indiscriminado y costoso de estos antidotos ante la falta de certeza del nivel de anticoagulación del paciente a operar.

Es preciso dejar en claro que estas mediciones no se justifican para el monitoreo de la dosis de DOACs durante la vida diaria, sino en situaciones esporádicas de mayor riesgo de sangrado. Como estas pruebas se piden muy ocasionalmente, el desperdicio de reactivos al realizarlas por un paciente aislado aumenta mucho sus costos y las agencias regulatorias no han promovido su empleo, por lo que se siguen usando las pruebas globales poco sensibles. En cuanto a éstas, puede señalarse que un T. de trombina convencional normal excluye concentraciones terapéuticas de dabigatrán pero un aPTT normal, no, y un T. Quick normal tampoco excluye concentraciones terapéuticas de rivaroxabán y, especialmente, de apixabán. El tiempo transcurrido desde la última toma se vuelve así, el elemento más útil a evaluar. Con una vida media promedio de 12 hs para estas drogas, 48 hs desde la última toma implica que han transcurrido 4 vidas medias. Sin embargo, estudios recientes encuentran que el 38% de pacientes que suspendieron 48 hs los DOACs tenían una concentración plasmática mayor de 30 ng/ml y postulan que 72 hs desde la última dosis es un intervalo más prudente para una cirugía (sólo el 5% de los pacientes tenían esa concentración).

Es esencial también analizar el riesgo hemorrágico del procedimiento. En cardiología intervencionista,

Tabla 1. Farmacología comparativa de los DOAC

Parámetros	Apixabán	Rivaroxabán	Dabigatrán
Blanco específico	Factor Xa	Factor Xa	Trombina
T. max	3-4 h	2-4 h	0,5-2 h
Biodisponibilidad	50%	80%	6%
Dosis estable con función renal normal	Fija 2xd 5 mg	Fija 1xd 20 mg	Fija 2xd 150 mg
Vida media	12-15 h	7-11 h	12-17 h
Depuración renal	25%	33%	80%
Unión a albúmina	87%	94%	35%
Control de laboratorio	Anti-Xa	Anti-Xa	T. Trombina diluido- T. ecarin
Concentraciones en pico ng/ml	171 (91-321)	215 (22-535)	175 (117-275)
Concentraciones en valle ng/ml	103 (41-230)	32 (6-239)	91 (61-143)

el estudio BRUISE CONTROL-2 analizó trombosis y sangrado en colocaciones de marcapasos en 662 pacientes con fibrilación auricular (FA) sin interrumpir DOACs vs su interrupción el día previo (2 días si se trataba de dabigatrán con depuración de creatinina < 50 ml/min); ambas estrategias tuvieron igual resultado (2.1% de hematoma del bolsillo y 0.3% de ACV). Con DOACs, sin embargo, se debe enfatizar no sólo los días de suspensión previa -que puede provocar una concentración residual en el valle del efecto, cuando se realiza la intervención- sino también el pico de la primera dosis post-intervención, por lo que se sugiere retrasar la toma posterior a la cirugía, aunque ella sea menor, a 8-12 hs después de su finalización.

¿Es seguro el enfoque farmacocinético para evitar sangrado, agrega algo conocer qué concentraciones de DOACs se observan al llevar al paciente a cirugía con suspensiones y reinicios previamente estandarizados y sin usar puentes con HBPM?

El estudio PAUSE, presentado en ASH 2018, como Late Breaking Abstract, contesta estas preguntas. Se consideró aceptable, en base a estudios previos, lograr una tasa de hemorragia mayor del 1% y de eventos arteriales de 0.5%. Se incluyeron pacientes con

FA (CHADS2 índice medio 2.0-2.2) que recibieran apixabán, dabigatrán, o rivaroxabán y que tuvieran una cirugía o procedimiento electivo que se clasificó como de alto (1/3 de los pacientes) o bajo riesgo hemorrágico. Se tomó muestra para medir concentración de DOAC antes del evento sin que ese dato influenciara el manejo. La interrupción de DOAC se realizó de acuerdo al protocolo de la Tabla 3.

En resumen: Bajo riesgo suspende 1 día además del día de la operación (36-42 hs)

Alto riesgo suspende 2 días además del día de la operación (60-68 hs) y se agregan 1-2 días de suspensión extra para los pacientes con dabigatrán y depuración de creatinina <50).

La tabla 4 muestra el protocolo de reinicio postoperatorio de DOACs de acuerdo al riesgo hemorrágico. Los resultados se muestran en la Tabla 5

Se encontraron concentraciones de DOAC < 50 ng/ml en el 98.9% de pacientes con alto riesgo de sangrado y concentraciones < 30 ng/ml en el 93.1% de similar riesgo con apixabán, 98.9% con dabigatrán y 85.3% con rivaroxabán.

Conclusiones. En pacientes con FA que tienen un procedimiento quirúrgico planeado, sin puenteo con HBPM y sin mediciones de concentración de

Tabla 2. Guía de manejo con DOACs según farmacocinética, función renal y riesgo hemorrágico del procedimiento. Modificado de Spyropoulos AC y col.

Agente	Función renal	Suspende bajo riesgo hemorrágico (días)	Suspende alto riesgo hemorrágico (días)	Reanuda bajo riesgo hemorrágico (días)	Reanuda alto riesgo hemorrágico (días)
Dabigatrán	Dep creat >50	Última dosis -2	Última dosis -3	+1	+2 o +3*
	Dep creat 30-50	Última dosis -3	Última dosis -4 o -5	+1	+2 o +3*
Rivaroxabán	Dep creat >50	Última dosis -2	Última dosis -3	+1	+2 o +3*
	Dep creat 30-50	Última dosis -2	Última dosis -3	+1	+2 o +3*
	Dep creat 15-30	Individualizar	Individualizar	+1	+2 o +3*
Apixabán	Dep creat >50	Última dosis -2	Última dosis -3	+1	+2 o +3*
	Dep creat 30-50	Última dosis -2	Última dosis -3	+1	+2 o +3*
	Dep creat 15-30	Individualizar	Individualizar	+1	+2 o +3*

*Se considera día 0 el de la cirugía. En pacientes con alto riesgo tromboembólico considerar reinicio a partir de la noche de la cirugía o de la mañana siguiente, 75 mg de dabigatrán cada 12 hs, rivaroxabán 10 mg/d o apixabán 2.5 mg cada 12 hs.

DOACs, siguiendo una estrategia de suspensión preoperatoria y postoperatoria según riesgo hemorrágico, se obtienen bajas tasas de sangrado mayor y de tromboembolismo arterial y en más del 95% de los pacientes con alto riesgo hemorrágico, las concentraciones de DOAC no muestran niveles

residuales de anticoagulación peligrosos. La recomendación es suspender 1 día antes, el día de la intervención y 1 día después en procedimientos de bajo riesgo de sangrado y 2 días antes, el día de la intervención y 2 días después en aquellos con procedimientos de alto riesgo hemorrágico.

Tabla 3. Protocolo de interrupción de DOACs de acuerdo al riesgo hemorrágico

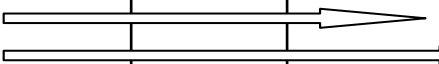
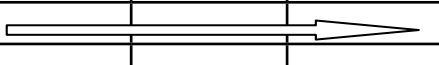
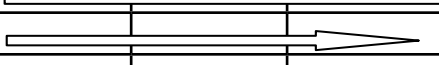
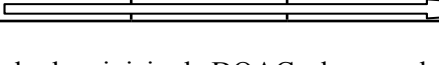
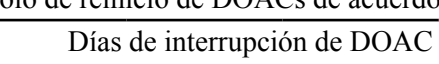
DOAC	Riesgo de sangrado	Días de interrupción de DOAC previo a la cirugía					Cirugía Día 0
		Día -5	Día -4	Día -3	Día -2	Día -1	
Dabigatrán (DepCr >50)	Alto						
Dabigatrán (DepCr <50)	Alto						
Rivaroxabán	Alto						
	Bajo						
Apixabán	Alto						
	Bajo						

Tabla 4. Protocolo de reinicio de DOACs de acuerdo al riesgo hemorrágico

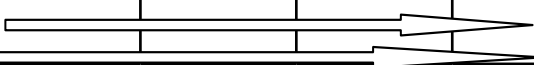
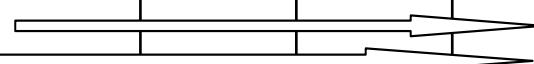
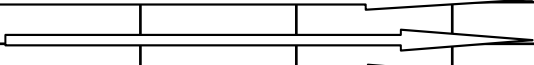
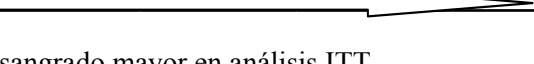
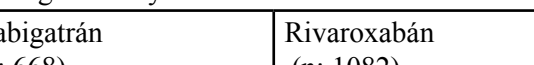
DOAC	Riesgo de sangrado	Días de interrupción de DOAC previo a la cirugía					Cirugía Día +5
		Día 0	Día +1	Día +2	Día +3	Día +4	
Dabigatrán (DepCr >50)	Alto						
Dabigatrán (DepCr <50)	Alto						
Rivaroxabán	Alto						
	Bajo						
Apixabán	Alto						
	Bajo						

Tabla 5. Tromboembolismo arterial y sangrado mayor en análisis ITT.

Eventos esperables	Apixabán (n:1257)	Dabigatrán (n: 668)	Rivaroxabán (n: 1082)
Trombo-embolismo arterial (0.5%)	n=2 0.16%	n=4 0.60%	n=4 0.37%
Sangrado mayor (1.0%)	n=17 1.35%	n=6 0.90%	n=20 1.85%

Conflictos de interés: El Dr Jorge Korin declara haber recibido honorarios por parte de Laboratorios Bayer y Boehringer Ingelheim por concepto de conferencias y actividades educativas en las que ha participado

Bibliografía

1. Burnett A, Siegel D, Crowther M. Specific antidotes for bleeding associated with direct oral anticoagulants. *BMJ*. 2017; 357:j2216 doi: 10.1136/bmj 2216.
2. Smythe MA, Trujillo T, Fanikos J. Reversal agents for use with direct and indirect anticoagulants. *Am J Health-Syst Pharm*. 2016; 73 (Suppl2): S27-48.
3. Healy JS, Eikelboom JW, Douketis J et al. Periprocedural bleeding and thromboembolic events with dabigatran compared with warfarin. Results from the randomized evaluation of long-term anticoagulation therapy (RE-LY) randomized trial. *Circulation*. 2012; 126: 343-348.
4. Testa S, Legnani C, Tripodi A et al. Poor comparability of coagulation screening test with specific measurement in patients receiving direct oral anticoagulants: results from a multicenter/multiplatform study. *J Thromb Haemost*. 2016; 14: 2194-2201.
5. Tripodi A, Ageno W, Ciaccio M et al. Position paper on laboratory testing for patients on direct oral anticoagulants. A Consensus Document from the SISET, FCSA, SIBioC and SIPMeL. *Blood Transfus*. 2018; 16: 462-470.
6. Albaladejo P, Pernod G, Godier A et al. Management of bleeding and emergency invasive procedures in patients on dabigatran: Updated guidelines from the French Working Group on Perioperative Haemostasis (GIHP). September 2016. *Anaesth Crit Care Pain Med*. 2018; 37: 391-399.
7. Levy JH. Discontinuation and management of direct-acting anticoagulants for emergency procedures. *Am J Med*. 2016; 129: S47-S53.
8. Lessire S, Dincq AS, Douxfils J et al. Preventive strategies against bleeding due to non vitamin K antagonist oral anticoagulants. *BioMed Res Intern*. 2014; dx.doi.org/10.1155/2014/616405.
9. Vanassche T, Lauw MN, Connolly SJ, Eikelboom JW. Heparin bridging in peri-procedural management of new oral anticoagulants: a bridge too far? *Eur Heart J*. 2014; 35: 1831-1833.
10. Douxfils J, Lessire S, Dincq AS et al. Estimation of dabigatran plasma concentrations in the perioperative setting. *Thromb Haemost*. 2015; 113: 862-869.
11. Spyropoulos AC, Al-Badri A, Sherwood MW, Douketis D. To measure or not to measure direct oral anticoagulants before surgery or invasive procedures: comment. *J Thromb Haemost*. 2016; 14: 2556-2559.
12. Godier A, Martin AC, Leblanc I et al. Periprocedural management of dabigatran and rivaroxaban: Duration of anticoagulant discontinuation and drug concentrations. *Thromb Res*. 2015; 136: 763-768.
13. Godier A, Dincq AS, Martin AC. Predictors of pre-procedural concentrations of direct oral anticoagulants: a prospective multicentre study. *Eur Heart J*. 2017; 38: 2431-2439.
14. Tripodi A. To measure or not to measure direct oral anticoagulants before surgery or invasive procedures: reply. *J Thromb Haemost*. 2017; 15: 202-204.
15. Weitz JI, Eikelboom JW. Urgent need to measure effects of direct oral anticoagulants. *Circulation*. 2016; 134: 186-188.
16. Birnie DH, Healey JS, Wells GA et al. Continued vs interrupted direct oral anticoagulants at the time of device surgery, in patients with moderate to high risk of arterial thromboembolic events (BRUISE CONTROL-2). *Eur Heart J*. 2018; 44: 3973-3979.
17. Douketis J, Spyropoulos AC, Duncan JM et al. Perioperative anticoagulant use for surgery evaluation (PAUSE) Study: A perioperative management plan for patients with atrial fibrillation who are receiving a direct oral anticoagulant. *Blood*. 2018 132:LBA-5; doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2018-120770>.



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 mieloide crónica en pediatría

Chronic myeloid leukemia in pediatrics

D' Aloí K

Hospital de Niños Pedro de Elizalde - CABA

karinadaloi@yahoo.com.ar



LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA EN PEDIATRÍA

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Número Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 253-260
Octubre 2019

Palabras claves: leucemia mieloide crónica,
niños,
características clínicas.

Keywords: chronic myeloid leukemia,
children,
clinical features.

La leucemia mieloide crónica (LMC) es un desorden clonal heterogéneo de la célula madre pluripotente caracterizado por la presencia de una anormalidad citogenética: el cromosoma Filadelfia. Éste se debe a una translocación recíproca entre los cromosomas 9 y 22, dando como resultado un gen de fusión, el *BCR-ABL1*, que codifica para una proteína con actividad de tirosin kinasa. Alrededor del 5% de los pacientes presentan un cromosoma Filadelfia citogenéticamente críptico requiriendo la técnica de FISH (hibridación in situ) para demostrar la presencia del transcrito BCR-ABL1. El gen *BCR/ABL* es transcrito a ARNm, dando lugar a una onco-proteína de 210 Kda de peso molecular (p210), en donde el potencial leucemogénico radica en la actividad tirosin-kinasa incontrolada, interactuando con proteínas efectoras y dando como resultado una proliferación celular excesiva, disminución de la adherencia de

las células leucémicas al estroma de la médula ósea y respuesta apoptótica reducida⁽¹⁾.

La LMC es una enfermedad infrecuente en niños y adolescentes. La edad media de presentación en países desarrollados es de 60-65 años. En la infancia representa el 2% de todas las leucemias en menores de 15 años y el 9% en adolescentes, con una incidencia anual de 1 a 2,2 casos por millón en estos dos grupos, respectivamente⁽²⁾.

Se describen tres formas de presentación clásicas de la enfermedad: fase crónica, en transformación y crisis blástica.

La incorporación, a comienzos del siglo XXI, de una terapia blanco mejoró el pronóstico y la supervivencia de pacientes con LMC (adultos o niños). El imatinib fue el primer inhibidor de tirosin-kinasa (ITK) utilizado en esta enfermedad, y la administración en forma indefinida en adultos en fase crónica es

la práctica habitual, intentándose en la actualidad la posibilidad de discontinuar el tratamiento en aquellos pacientes con respuestas moleculares completas y sostenidas⁽³⁾.

Debido a la muy baja incidencia de LMC en niños y adolescentes, para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de éstos se utilizan guías establecidas para adultos con la misma enfermedad⁽⁴⁾.

Las guías más utilizadas son ELN (*European Leukemia Net*)⁽⁵⁾ y NCCN (*Comprehensive Cancer Network*)⁽⁶⁾, aunque no existe evidencia que avale el uso de éstas en pediatría.

Los niños y adolescentes con LMC tienen características diferentes a la de los adultos. En general, la forma de presentación es más agresiva, con recuentos de leucocitos más elevados, mayor compromiso sistémico (esplenomegalia masiva) y más frecuentemente se presentan con crisis blástica (CB) o fase acelerada (FA)⁽⁷⁻⁸⁾.

En la LMC de niños y adultos se encuentra el cromosoma Filadelfia (Ph) y el gen de fusión *BCR ABL1*, pero este último presenta diferencias en la distribución de los puntos de ruptura del *BCR ABL* en pacientes pediátricos comparados con adultos. A nivel genómico, los niños en fase crónica con LMC presentan un patrón de distribución de los puntos de ruptura en el gen *BCR* y una mayor proporción de puntos de ruptura en las regiones de repetición Alu en comparación con adultos con LMC en FC⁽⁹⁾.

En pacientes adultos con LMC se observa un único punto de ruptura en el primer centrómero de 1.5 kb en la región del *BCR-ABL1*. En contraste a esta situación, en los niños los sitios de fusión presentan una distribución bimodal de los puntos de ruptura⁽⁹⁾. Esta distribución es similar al patrón observado en pacientes adultos con leucemia linfoblástica aguda Ph positiva con rearrreglos M-BCR. Estas diferencias a nivel genómico pueden contribuir a las características clínicas más agresivas en la LMC pediátrica en comparación con la LMC en adultos⁽⁹⁾.

Los pacientes pediátricos tienen un mayor porcentaje de presentaciones agresivas si se los compara con los adultos con LMC. El porcentaje en niños en fase acelerada o crisis blástica es mayor. Lo mismo sucede con el tamaño esplénico, que habitualmente ocupa gran parte del abdomen, pudiendo llegar a ambas fosas ilíacas⁽¹⁰⁾.

El recuento medio de leucocitos en niños con LMC es de $200 \times 10^9/L$ (en adultos es de $80 \times 10^9/L$), con

una media de edad de distribución de 11,6 años. Hay un leve predominio de casos en varones que no es significativo⁽⁸⁾.

En el *GIMEMA CML Working Party* se analizaron 2784 pacientes mayores de 18 años, observándose en el grupo de adultos jóvenes (18-29 años) presentaciones clínicas más agresivas en comparación con adultos mayores de 50 años⁽¹¹⁾.

En relación con la respuesta citogenética y molecular luego de la administración de ITK en el grupo de adultos jóvenes, se observó una menor respuesta comparándolos con adultos mayores, situación visualizada en niños y adolescentes con LMC⁽¹²⁾.

Existen diferentes índices pronósticos como el Sokal, Hasford y EUTOS, que en la práctica diaria se utilizan en pacientes adultos con LMC⁽¹³⁻¹⁵⁾.

Tanto el índice Sokal como el Hasford fueron diseñados antes de la incorporación de ITK en el tratamiento de LMC (interferón, hidroxiurea, busulfán, etc.).

El cálculo del índice Sokal se basa en la siguiente fórmula: $\exp (0.0116 \times (\text{edad} [\text{años}] - 43.4)) + (0.0345 \times (\text{tamaño esplénico} [\text{cm}] - 7.51) + (0.188 \times ((\text{plaquetas} [10^9/L]/700)^2 - 0.563)) + (0.0887 \times (\text{blastos} [\%] - 2.10))$. De acuerdo con el resultado obtenido, los pacientes con LMC se clasifican en tres grupos de riesgo: bajo: < 0.8 , intermedio: $0.8 - 1.2$ y alto > 1.2 ⁽¹⁴⁾.

El índice Hasford se calcula con la siguiente fórmula: $(0.6666 \times \text{edad} [0 \text{ cuando la edad} < 50 \text{ años}; 1 \text{ los demás}]) + (0.0420 \times \text{tamaño esplénico} [\text{cm}]) + (0.0584 \times \text{blastos} [\%]) + (0.0413 \times \text{eosinófilos} [\%]) + (0.2039 \times \text{basófilos} [0 < 3\%; 1 > 3\%]) + (1.0956 \times \text{recuento de plaquetas} [0 < 1500 \times 10^9/L; 1 > 1500 \times 10^9/L]) \times 1000$. Se identifican 3 grupos de riesgo: bajo ≤ 780 , intermedio $781 - 1480$ y alto ≥ 1481 ⁽¹⁶⁾.

El EUTOS (grupo europeo) surge de un estudio realizado en pacientes tratados con imatinib. El índice se aplica al diagnóstico y antes de iniciar con la terapia con ITK. El índice EUTOS se calcula de la siguiente forma: $(7 \times \text{basófilos} [\%]) + (4 \times \text{tamaño esplénico} [\text{cm}])$. Se identifican dos grupos de riesgo: bajo con un puntaje < 87 y alto con un puntaje ≥ 87 ⁽¹⁵⁾. Este índice predice la progresión libre de enfermedad basándose en la respuesta citogenética temprana con imatinib dentro de los 18 meses del diagnóstico⁽¹⁷⁾.

En un estudio realizado en niños con LMC se intentó validar estos sistemas de puntuación en la

población pediátrica⁽¹⁸⁾. Se evaluaron 90 pacientes menores de 18 años con LMC en fase crónica, todos ellos enrolados en el estudio CML-PAED II⁽¹⁹⁾. Comparando estudios previos de pacientes adultos donde se utilizaron estos índices pronósticos (Sokal y Hasford), se observó que la distribución de grupos de riesgo es diferente según el grupo de edad analizado adultos vs niños y adolescentes (bajo: 40% vs 66%, intermedio: 34% vs 22%, alto: 26% vs 12%)⁽²⁰⁾. Si se comparan dos individuos con igual tamaño esplénico y recuento de leucocitos al diagnóstico, el primero de ellos de 10 años y el segundo de 60 años, se obtendrán 2 grupos de riesgo diferente, bajo y alto respectivamente utilizando el índice Sokal. Se aprecia que la edad ejerce un efecto importante en el cálculo de los grupos de riesgo. Asimismo, se debe tener en cuenta el volumen del bazo en relación con la superficie corporal. En los pacientes pediátricos se utilizan tablas para la determinación del volumen esplénico basándose en la longitud y peso. Por lo tanto, es un factor importante que puede dificultar la aplicación de sistemas de puntuación basados en el tamaño esplénico en pacientes pediátricos con LMC. Otra característica clínica de relevancia es que, en adolescentes, el tamaño del bazo suele ser mayor que en adultos en fase crónica de LMC.

El sistema de puntuación Sokal fue diseñado antes de la era del imatinib, cuando se utilizaba hidroxurea y busulfán como tratamiento y la mayoría de los pacientes recibían un trasplante de células precursoras hematopoyéticas (TCPH) y la edad constituía un factor de mal pronóstico. Con la incorporación de los ITK se demostró que la respuesta y la mortalidad no se veían afectadas por la edad⁽²¹⁾.

En la actualidad la escasez de datos pediátricos no permite extraer conclusiones definitivas de cohortes pequeñas con un seguimiento a corto plazo. Se debe tener en cuenta que la mayoría de las publicaciones de LMC en adultos se basan en números grandes de pacientes, mientras que en pediatría el análisis se realiza en cohortes pequeñas. Por lo tanto, hasta la fecha estos índices pronósticos no se han podido validar en niños con LMC.

El uso de imatinib ha revolucionado el pronóstico de pacientes adultos con LMC, eliminando el TCPH en fase crónica en la mayoría de los casos. En niños y adolescentes en FC se utilizan diferentes ITK para el tratamiento de LMC, pero la decisión de realizar o no un TCPH es controversial.

Existen pocos estudios retrospectivos en pacientes pediátricos a quienes se les realizó un TCPH antes del uso de imatinib⁽²²⁻²³⁾. La sobrevida libre de eventos (SLE) a los 3 y 5 años fue del 61% al 63% para niños y adolescentes que recibieron un TCPH desde 1982 hasta 2004⁽²²⁾ y la sobrevida global (SG) fue del 66% al 87% con donantes relacionados. Para trasplantes con donantes no relacionados los resultados fueron levemente inferiores: SLE 27% al 55% y SG del 45% al 65%. La complicación principal fue la enfermedad de injerto contra huésped (EICH), siendo más frecuente en trasplantes no relacionados. Estos datos se obtuvieron antes de la incorporación de los ITK al tratamiento de la LMC, por lo tanto los resultados tal vez sean obsoletos.

Los pacientes que recibieron imatinib antes de trasplantarse tuvieron un menor riesgo de muerte comparado con aquéllos que no lo recibieron, probablemente debido a que éstos últimos tenían una mayor carga tumoral⁽²⁴⁾. El rol de los ITK luego del trasplante no es claro, aunque se utilizan sin toxicidad significativa aproximadamente por un año luego del procedimiento⁽²²⁾.

La morbi-mortalidad asociada al TCPH puede ser significativa en la era del imatinib. De hecho, si se pierde la respuesta con imatinib, existen ITK de segunda generación obteniendo repuestas moleculares completas⁽²⁵⁾. Se realizó un análisis retrospectivo de 27 pacientes pediátricos quienes habían perdido la respuesta con el uso de imatinib, recibiendo ITK de segunda generación (dasatinib o nilotinib), observándose respuesta molecular profunda en un 63% de los pacientes y un 37% de los mismos mantuvo esta respuesta⁽²⁶⁾.

El TCPH es una opción para considerar cuando se pierde la respuesta con ITK de segunda generación o cuando la enfermedad progresa a fase acelerada o crisis blástica.

La ocurrencia de una crisis blástica en un paciente en tratamiento con ITK durante una fase crónica es inusual, y la sobrevida cuando esta situación se presenta es tan baja como en una CB *de novo*. Las guías actuales del NCCN recomiendan realizar un TCPH alogénico para pacientes que progresan a crisis blástica y debería realizarse dentro de los 3-6 meses de haberse producido este acontecimiento^(5,27).

El uso de imatinib en pacientes pediátricos se inició en el año 2003. Los ITK de segunda generación (dasatinib y nilotinib) fueron aprobados por la FDA

en el 2006 y 2007 respectivamente para su uso en pacientes adultos quienes eran intolerantes o resistentes a imatinib⁽²⁸⁾.

Las dosis recomendadas de imatinib van desde los 260 a 340 mg/m², una vez al día por vía oral.

El imatinib ha mejorado significativamente la sobrevida global y la sobrevida libre de eventos en pacientes pediátricos con LMC. Varios trabajos publicados han confirmado que el imatinib es altamente efectivo cuando se lo utiliza como droga en primera línea⁽²⁹⁾.

El *Children's Oncology Group* (COG) fue uno de los primeros grupos en publicar datos sobre el uso de imatinib en niños en el año 2004⁽³⁰⁾. En este trabajo se demostró que el imatinib a una dosis de 260 mg/m² a 570 mg/m² es bien tolerado en niños con leucemias Ph+ refractarios o recurrentes. Todos los pacientes evaluados presentaron respuesta hematológica y el 83% obtuvo la respuesta citogenética completa (RCC), la mayoría de ellas se mantuvo en el tiempo y sólo 2 pacientes experimentaron recaída citogenética. En otro trabajo realizado en 8 países europeos se enrolaron 30 pacientes. Se obtuvo un 80% de respuesta hematológica y un 60% de RCC en todos los pacientes analizados⁽³¹⁾.

Resultados similares fueron publicados en Francia en un estudio realizado a 40 pacientes, observándose a los 3 meses que el 86% alcanzaba la remisión hematológica completa y a los 6 meses el porcentaje se elevaba a 98%, con una media de seguimiento de 16 meses⁽³²⁾. La RCC se observó en un 62% de los niños dentro del año de tratamiento con imatinib y 34% obtuvieron la remisión molecular completa (RMC) dentro de ese mismo periodo. El grupo alemán en el estudio CML-PAED II demostró la efectividad del uso de imatinib en pacientes con LMC en fase crónica. El trabajo fue publicado en el año 2009 y enroló a 42 pacientes de los que 40 obtuvieron la RHC dentro de los 3 meses de tratamiento con ITK. Otra observación importante fue la respuesta molecular en 17 pacientes dentro de los 18 meses de tratamiento⁽³³⁾. Los resultados preliminares fueron presentados en el 56° Congreso de la Sociedad Americana de Hematología.

El grupo polaco en el año 2016 publicó los resultados de 57 pacientes pediátricos con diagnóstico de LMC con una media de seguimiento de 31 meses. La RHC se obtuvo a los 3 meses de implementar el tratamiento con imatinib en todos los pacientes.

La RCC después de 12 meses de terapia se observó en un 69% de los casos, mientras que la RMM la obtuvieron el 61% de los pacientes a los 18 meses de tratamiento⁽³⁴⁾.

Los resultados publicados por grandes grupos internacionales coinciden en que el imatinib es una terapéutica adecuada para pacientes pediátricos en fase crónica con LMC, a pesar de que la mayoría de estas publicaciones sólo presentan cohortes con un número pequeño de pacientes debido a la baja incidencia de esta enfermedad en la infancia.

Más allá de los muy buenos resultados con ITK en pacientes pediátricos, existen algunas consideraciones para tener en cuenta.

Los efectos adversos asociados al uso de imatinib incluyen citopenias, náuseas, vómitos, diarrea, edema, elevación de las enzimas hepáticas y *rash* inespecífico en piel, pero todos ellos son leves y bien tolerados. Con el uso crónico de imatinib se han observado alteraciones en la remodelación ósea y cambios en la densidad mineral del hueso, situación que tendría impacto en el sistema óseo de niños que posiblemente requieran el uso del ITK por varias décadas. Se ha observado una desaceleración en el crecimiento en pacientes pre y post púberes en tratamiento con imatinib. El mecanismo por el cual el imatinib afecta el crecimiento longitudinal óseo se desconoce⁽³⁵⁾.

Los niños tienen un sistema esquelético inmaduro, por lo tanto el uso prolongado de estos inhibidores en forma indefinida puede afectar el correcto desarrollo óseo y el crecimiento. Estos efectos adversos fueron observados con imatinib. Menos se sabe con el uso de inhibidores de segunda generación debido al poco tiempo de uso de los mismos⁽³⁵⁾. Los pacientes en tratamiento con imatinib presentan una disminución en los niveles de la hormona de crecimiento que podría afectar el desarrollo óseo.

El uso de imatinib afecta más pronunciadamente a niños en etapa prepuberal, por lo tanto la talla final de los mismos es más baja que la esperada. Algunos informes sugieren que la hormona de crecimiento/IGF-1 se ve afectada por los ITK y esta situación podría tener como resultado una talla en el adulto inferior a la esperada. Hasta la fecha no se ha podido demostrar que la suplementación con hormona de crecimiento sea un tratamiento efectivo en estos pacientes⁽³⁵⁾.

La toxicidad cardíaca que incluye la prolongación

del intervalo QT puede ocurrir con el uso de ITK, especialmente con nilotinib. Existe controversia sobre la cardiotoxicidad y el uso de imatinib⁽³⁶⁻³⁷⁾. A la fecha no se han descrito efectos adversos cardiovasculares en niños, y probablemente se requiera el seguimiento por varias décadas de uso de los ITK. Otro efecto adverso de los ITK podría ser la teratogénesis, recomendándose en las adolescentes la prevención de embarazos durante el tratamiento con los mismos. Una de las situaciones de más impacto en niños y adolescentes que reciben ITK por períodos prolongados es el efecto sobre la fertilidad, pero hay muy pocos datos en humanos en este sentido, y los resultados de los estudios con animales varían con respecto al efecto del imatinib. Sin embargo, existen algunos reportes aislados acerca de la infertilidad en adolescentes varones y en jóvenes mujeres que recibieron imatinib⁽³⁸⁾. Se necesitan más estudios a largo plazo para determinar si el uso en forma prolongada de ITK afecta la reproducción.

Existe una problemática que es observada frecuentemente en adolescentes y es la falta de adherencia o abandono del tratamiento. El uso crónico de medicamentos y los controles periódicos se ven afectados en este grupo etario no sólo en LMC: es habitual ver este comportamiento en enfermedades crónicas como talasemia mayor o drepanocitosis. Tanto el imatinib como el dasatinib se administran en una sola dosis diaria, mientras que el nilotinib se realiza en 2 tomas con ciertas restricciones dietéticas. Por lo tanto, a la hora de indicar un inhibidor en este grupo de pacientes, es importante tener en cuenta estas consideraciones. Se ha demostrado falta de adherencia al tratamiento en pacientes adultos con LMC en un 15-30%. Dentro de esta realidad clínica, la omisión del 10% de la dosis mensual acumulativa de imatinib (por ejemplo, 3 días por mes) da como resultado un logro significativamente inferior en relación con los objetivos del tratamiento. La suspensión voluntaria de ITK podría tener como consecuencia generar resistencia o recaída de la enfermedad⁽³⁹⁾. Por lo tanto, si se observa una recaída de la enfermedad o falla en el tratamiento en la población adolescente, se debería considerar en primer lugar el abandono del tratamiento⁽⁴⁰⁾.

El uso de drogas de alto costo, como es el caso de los ITK, puede generar dificultades en los sistemas de salud y va a depender de la disponibilidad y el precio de productos genéricos. Teniendo en cuenta

el costo, los efectos adversos a corto y largo plazo y la adherencia al tratamiento, una de las posibilidades será suspender en grupos seleccionados la administración de ITK.

El estudio STIM (*stop imatinib*) contempla la suspensión de imatinib en pacientes adultos con LMC en RMM por al menos dos años⁽⁴¹⁾. En este trabajo se enrolaron 100 pacientes, de ellos en 69 se realizó un seguimiento con una media de 17 meses y 42 de estos 69 pacientes experimentaron una recaída luego de la suspensión del imatinib, la mayoría presentó la recaída dentro de los 6 meses de haber suspendido el ITK (40 pacientes). Cerca del 40% de los pacientes con seguimiento permanecieron en RMM. Todos los pacientes que presentaron recaída de la enfermedad respondieron a la reintroducción del imatinib. En un análisis más reciente se observaron mejores resultados cuando se evaluó la discontinuación de ITK en 755 adultos quienes habían recibido por 3 años tratamiento con un inhibidor y presentaban una respuesta molecular mayor de al menos un año⁽⁴²⁾. La sobrevida libre de recaída molecular para estos pacientes fue del 61% a los 6 meses y 50% a los 2 años.

En el registro internacional de pacientes pediátricos con LMC que se encuentra dentro del grupo internacional Berlin-Frankfurt-Munster (I_BFM), recomiendan la discontinuación de imatinib en pacientes con LMC en fase crónica que hayan recibido imatinib por al menos 3 años y que hubieran presentado remisión molecular profunda por 2 años⁽⁴³⁾.

En el STOP IMAPED se analizó la discontinuidad de ITK en pacientes pediátricos con LMC en fase crónica y se observó que la mayoría de los pacientes experimentaban recaída molecular, mientras que sólo el 28% permanecieron en remisión molecular profunda, recordando que en el estudio STIM el porcentaje fue del 50%⁽⁴⁴⁾. Este estudio se llevó a cabo en forma retrospectiva, a diferencia de los ensayos realizados en adultos que fueron prospectivos. Una explicación posible en relación con las diferencias entre adultos y niños que suspenden imatinib podría deberse a que en los niños los puntos de ruptura del BCR-ABL difieren cuando se los compara con pacientes adultos con LMC en FC⁽⁴⁵⁾. La discontinuación de los ITK en pediatría debería ser sólo experimental y hacerse dentro de grupos colaborativos internacionales.

Conclusiones

Los niños con LMC presentan características más agresivas que los adultos con la misma enfermedad. Probablemente las diferencias en la biología de la LMC de adultos y niños sea la responsable de esta forma de presentación. Si bien el imatinib y los ITK de segunda generación han resultado ser muy eficaces en el tratamiento de LMC pediátrica, éstos presentan efectos adversos a largo plazo que pueden producir secuelas indeseables en este gru-

po de pacientes, teniendo en cuenta que los mismos tienen una expectativa de vida de varias décadas. El TCPH sigue siendo una opción curativa, pero debido al riesgo de complicaciones a corto o largo plazo su uso es muy limitado. El gran desafío en los años próximos será discontinuar la administración de ITK en grupos seleccionados de pacientes, y para ello será necesario participar de grupos colaborativos internacionales.

Conflictos de interés:

La autora declara no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

1. Goldman JM, Melo JV. Targeting the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2001;344(14):1084-1086.
2. Ries LAG, Smith M, Gurney JG et al. Cancer Incidence and Survival among Children and Adolescents: United States SEER Program 1975-1995. In: National Cancer Institute, vol. 99. Bethesda, MD: SEER Program; 1999:46-49.
3. Druker BJ, Sawyers CL, Kantarjian H et al. Activity of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in the blast crisis of chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia with the Philadelphia chromosome. *N Engl J Med*. 2001;344(14):1038-1042.
4. Nobuko Hijiya et al. Pediatric chronic myeloid leukemia is a unique disease that requires a different approach. *Blood*. 2016 Jan 28; 127(4): 392-399.
5. Chronic Myelogenous Leukemia: National Comprehensive Cancer Network; 2015. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology.
6. Baccarani M, Deininger MW, Rosti G et al. European Leukemia Net recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood*. 2013;122(6):872-884.
7. Millot F, Traore P, Guilhot J et al. Clinical and biological features at diagnosis in 40 children with chronic myeloid leukemia. *Pediatrics*. 2005;116(1):140-143.
8. Millot F, Suttorp M, Guilhot J et al. The International Registry for Chronic Myeloid Leukemia (CML) in Children and Adolescents (I-CML-Ped-Study): objectives and preliminary results [abstract]. *Blood*. 2012. Abstract 3741
9. Krumbholz M, Karl M, Tauer JT et al. Genomic BCR-ABL1 breakpoints in pediatric chronic myeloid leukemia. *Genes Chromosomes Cancer*. 2012;51(11):1045-1053.
10. Castagnetti F, Gugliotta G, Baccarani M et al. GIMEMA CML Working Party. Differences among young adults, adults and elderly chronic myeloid leukemia patients. *Ann Oncol*. 2015;26(1):185-192.
11. Castagnetti F, Gugliotta G, Baccarani M et al. Differences among young adults, adults and elderly chronic myeloid leukemia patients. GIMEMA CML Working Party. *Ann Oncol*. 2015 Jan; 26(1):185-92.
12. Millot F, Guilhot J, Baruchel A et al. Impact of early molecular response in children with chronic myeloid leukemia treated in the French Glivec phase 4 study. *Blood*. 2014;124(15):2408-2410.
13. Hasford J, Pfirrmann M, Hehlmann R et al. Writing Committee for the Collaborative CML Prognostic Factors Project Group. A new prognostic score for survival of patients with chronic myeloid leukemia treated with interferon alfa. *J Natl Cancer Inst*. 1998;90(11):850-858.
14. Sokal JE, Cox EB, Baccarani M et al. Prognostic discrimination in "good-risk" chronic granulocytic leukemia. *Blood*. 1984;63(4):789-799.
15. Hasford J, Baccarani M, Hoffmann V et al. Predicting complete cytogenetic response and subsequent progression-free survival in 2060 patients with CML on imatinib treatment: the EUTOS score. *Blood*. 2011;118(3):686-692.
16. Hasford J, Pfirrmann M, Hehlmann R, Allan NC, Baccarani M, Kluin-Nelemans JC et al. A new prognostic score for survival of patients with chronic myeloid leukemia treated with interferon alfa. *J Natl Cancer*

- Inst. 1998; 90: 850-8.
17. Breccia M, Finsinger P, Loggisci G et al. The EUTOS score identifies chronic myeloid leukemia patients treated with imatinib first or second line. *Leuk Res.* 2012;36(9):e209-e210.
18. David Gurrea Salas, Ingmar Glauche, Josephine T Tauer et al. Can prognostic scoring systems for chronic myeloid leukemia as established in adults be applied to pediatric patients? *Ann Hematol.* 2015 Aug;94(8):1363-71.
19. Suttorp M. Protocol for standardized diagnostic procedures, registration and treatment recommendations in children and adolescents with Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia(CML). CML-paed-IIStudy. 2006.
20. Oyekunle AA, Osho PO, Aneke JC et al. The predictive value of the Sokal and Hasford scoring systems in chronic myeloid leukemia in the imatinib era. *J Hematol Malign.* 2012;2(2):25-32.
21. Gugliotta G, Castagnetti F, Palandri F et al. Frontline imatinib treatment of chronic myeloid leukemia: no impact of age on outcome, a survey by the GIMEMA CML Working Party. *Blood.* 2011;117(21):5591-5599.
22. Millot F, Esperou H, Bordigoni P et al. Allogeneic bone marrow transplantation for chronic myeloid leukemia in childhood: a report from the Société Française de Greffe de Moelle et de Therapie Cellulaire (SFGM-TC). *Bone Marrow Transplant.* 2003;32(10):993-999.
23. Suttorp M, Claviez A, Bader P et al. Allogeneic stem cell transplantation for pediatric and adolescent patients with CML: results from the prospective trial CML-paed I. *Klin Pediatr.* 2009;221(6):351-357.
24. Lee SJ, Kukreja M, Wang T et al. Impact prior imatinib mesylate on the outcome of hematopoietic cell transplantation for chronic myeloid leukemia. *Blood.* 2008; 112(8):3500-3507.
25. Shah NP, Rousselot P, Schiffer C et al. Dasatinib in imatinib-resistant or intolerant chronic-phase, chronic myeloid leukemia patients: 7-year follow-up of study CA180-034. *Am J Hematol.* 2016;91(9):869-874.
26. Kurosawa H, Tanizawa A, Muramatsu H et al. Sequential use of second generation tyrosine kinase inhibitors following imatinib therapy in pediatric chronic myeloid leukemia: A report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. *Pediatr Blood Cancer.* 2018;65(12): e27368.
27. Nair AP, Barnett MJ, Broady RC et al. Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation Is an Effective Salvage Therapy for Patients with Chronic Myeloid Leukemia Presenting with Advanced Disease or Failing Treatment with Tyrosine Kinase Inhibitors. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2015;21(8):1437-1444.
28. Kantarjian H, Shah NP, Hochhaus A et al. Dasatinib versus imatinib in newly diagnosed chronic phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2010;362(24):2260-2270.
29. Janeczko M, Czarnecka, Krawczuk M, Rybak, Karpińska I, Derda et al. Imatinib in the treatment of chronic myeloid leukaemia in children and adolescents is effective and well tolerated: Report of the Polish Paediatric Study Group for the Treatment of Leukaemias and Lymphomas. *Adv Clin Exp Med.* 2018;27(1):91-98.
30. Champagne MA, Capdeville R, Krailo M et al. Imatinib mesylate (STI571) for treatment of children with Philadelphia chromosome-positive leukemia: Results from a Children's Oncology Group phase 1 study. *Blood.* 2004;104(9):2655-2660.
31. Millot F, Guilhot J, Nelken B et al. Imatinib mesylate is effective in children with chronic myelogenous leukemia in late chronic and advanced phase and in relapse after stem cell transplantation. *Leukemia.* 2006;20(2):187-192.
32. Millot F, Baruchel A, Guilhot J et al. Imatinib is efficient but has a negative impact on growth in children with previously untreated chronic myelogenous leukaemia (CML) in early chronic phase (CP): Results of the French national phase IV trial. *Blood.* 2009;110:863.
33. Suttorp M, Thiede C, Tauer et al. Chronic myeloid leukemia in pediatrics: First results from study CML-PAED II. *Blood.* 2009; 114:145.
34. Małgorzata Janeczko-Czarnecka, Maryna Krawczuk-Rybak, Irena Karpińska-Derda et al. Imatinib in the treatment of chronic myeloid leukemia in children and adolescents is effective and well tolerated: Report of the Polish Pediatric Study Group for the Treatment of Leukemias and Lymphomas. *Adv Clin Exp Med.* 2018;27(1):91-98.
35. Ulmer A, Tabea Tauer J, Glauche I, Jung R, Suttorp M. TK inhibitor treatment disrupts growth hormone axis: clinical observations in children with CML and experimental data from a juvenile animal model. *Klin Pediatr.* 2013;225(3):120-126.
36. Kerkela R, Grazette L, Yacobi R et al. Cardiotoxicity of the cancer therapeutic agent imatinib mesylate. *Nat Med.* 2006; 12(8):908-916.
37. Geidel P, Steinbronn N et al. Cardiac failure in juveni-

- le rats caused by continuous long-term exposure to the tyrosine kinase inhibitor dasatinib can be circumvented by an intermittent application schedule [abstract]. *Blood*. 2013;122(21).
38. Ulmer A, Tauer JT, Suttrop M. Impact of treatment with tyrosine kinase inhibitors on blood levels of growth hormone-related parameters, testosterone, and inhibin B in juvenile rats and pediatric patients with chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2012; 120:3752.
 39. Marin D, Bazeos A, Mahon FX et al. Adherence is the critical factor for achieving molecular responses in patients with chronic myeloid leukemia who achieve complete cytogenetic responses on imatinib. *J Clin Oncol*. 2010;28(14):2381-2388.
 40. Mancini J, Simeoni MC, Parola N et al. Adherence to leukemia maintenance therapy: a comparative study among children, adolescents, and adults. *Pediatr Hematol Oncol*. 2012;29(5):428-439.
 41. Mahon FX, Réa D, Guilhot J et al. Intergroupe Français des Leucémies Myéloïdes Chroniques. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial. *Lancet Oncol*. 2010 Nov;11(11):1029-35.
 42. Saussele S, Richter J, Guilhot J et al. Discontinuation of tyrosine kinase inhibitor therapy in chronic myeloid leukemia (EURO-SKI): a prespecified interim analysis of a prospective, multicentre, non-randomised, trial. *The Lancet Oncology*. 2018;19, 747-757.
 43. De la fuente J, Baruchel A, Biondi A et al. For the international BFM group (iBFM) Study Group Chronic Myeloid Leukaemia Committee. Managing children with chronic myeloid leukaemia (CML): recommendations for the management of CML in children and Young people up to the age of 18 years. *British Journal of Haematology*. 2014;167, 133-147.
 44. de Bruijn C, Millot F, Meinolf M et al. Discontinuation of imatinib in children with chronic myeloid-leukaemia in sustained Deep molecular remission: results of the STOP IMAPED study. *Br J Haematol*. 2019 May;185(4):718-724.



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 mieloide crónica en pediatría: rol del laboratorio en el diagnóstico y seguimiento

Chronic myeloid leukemia in children:
role of the laboratory in the diagnosis and follow-up

Zanella MJL

Laboratorio de Especialidades Bioquímicas-Bahía Blanca

bmolecular@leblaboratorio.com.ar
lorezanella@yahoo.com.ar



LEUCEMIA
MIELOIDE CRÓNICA
EN PEDIATRÍA

HEMATOLOGÍA
Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 261-267
Octubre 2019

Palabras claves: leucemia mieloide crónica,
pediatría,
BCR-ABL1.

Keywords: chronic myeloid leukemia,
pediatrics,
BCR-ABL1.

Introducción

La leucemia mieloide crónica (LMC) es una patología infrecuente en la infancia, representa menos del 10% de todos los casos de LMC y menos del 3% de todas las leucemias pediátricas. La incidencia aumenta con la edad, siendo su frecuencia de 0,7/millón/año entre 1 a 14 años y aumenta a 1,2/millón/año en la adolescencia. Por esta razón, hay pocos trabajos y con reducido número de casos que aborden específicamente las características de la LMC en pediatría al momento del diagnóstico, así como de los resultados del monitoreo del tratamiento⁽¹⁻³⁾.

Fisiopatología

La LMC es una neoplasia mieloproliferativa asociada a la translocación recíproca entre los brazos largos de los cromosomas 9 y 22, t(9;22)(q34.1;q11.2), que da como resultado el cromosoma *Philadelphia* (Ph) (derivado 22 de la t(9;22)). Los puntos de ruptura involucran al gen *ABL1* (homólogo al v-abl oncogen *Abelson murine leukemia virus*), ubicado en el

brazo largo del cromosoma 9, y el *breakpoint cluster region* (*BCR*), en el brazo largo del cromosoma 22. La translocación origina el oncogén de fusión *BCR-ABL1*, de cuya transducción resulta la proteína de fusión quimérica *BCR-ABL1*. Esta proteína tiene actividad de tirosina quinasa constitutiva y causa la activación anormal de varias vías de señalización intracelular, resultando en inestabilidad genómica, proliferación celular patológica y persistencia de clones de LMC^(4,5).

El gen *ABL1* normal, codifica una proteína p145 con actividad de tirosina quinasa. El gen *BCR* codifica una proteína p160, con actividad de serina-treonina quinasa que actúa en la regulación del crecimiento celular. Para cumplir con su actividad quinasa, la proteína ABL1 debe primero ser fosforilada, lo que se logra por medio de la autofosforilación, dicha proteína tiene tres dominios principales denominados SH1, SH2 y SH3 (Figura 1) que juntos expresan y regulan la actividad de quinasa. SH1 es el sitio de unión del ATP; SH2 es el punto de anclaje de las proteínas re-

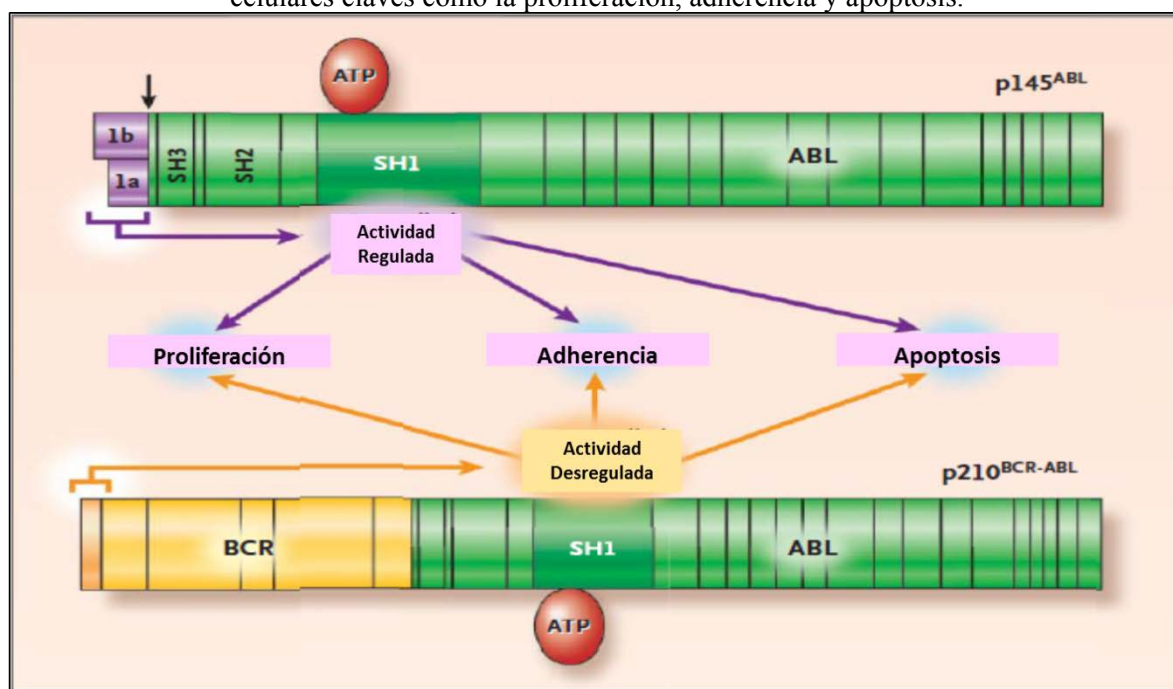
ceptoras de fosfato y SH3 es el dominio que controla la actividad de fosforilación. Cuando el ATP se une a su sitio de unión, el fosfato se transfiere a la región SH2 de la proteína ABL1, que cambia su conformación alterando la estructura terciaria de la proteína y expone el sitio activo de la enzima. Cuando un segundo ATP se une a su sitio de unión y una proteína receptora se fija en el dominio SH2, el grupo fosfato es transferido a la proteína receptora. Esta fosforilación inicia una cascada de señales intracelulares que culminan en la activación de múltiples factores de transcripción. Estas vías de transducción de señales, están diseñadas para activar los genes necesarios para controlar la proliferación celular, la diferenciación y la apoptosis. En la LMC, al producirse la translocación, se pierden los dominios SH2 y SH3 y, con ellos, la capacidad de autorregulación, llevando a la célula a una actividad constitutiva de tirosina quinasa, agregando de modo continuo fosfatos a los residuos de tirosina en las proteínas citoplasmáticas, y la activación de varias vías de transducción de señales. El resultado es el aumento de la proliferación clonal de células mieloides secundario a la reducción o la pérdida de la sensibilidad a los reguladores proteicos, el

incremento de la proliferación celular independiente del factor de crecimiento por la activación del gen RAS, y una disminución de la apoptosis o resistencia a ella^(6,7).

Evaluación de *BCR-ABL1*

El gen *ABL1* normal contiene 11 exones, el punto de corte se produce en forma constante en el extremo 5' del exón 2, mientras que el gen *BCR* normal con 20 exones presenta cuatro posibles puntos de corte que dan lugar a las distintas isoformas. Las rupturas en el gen *BCR* se presentan: entre los exones 13 a 15; dando lugar a la isoforma *BCR* mayor (*BCR-M*): transcripto p210 (b2-a2 y b3-a2, según nomenclatura antigua), presente en la mayoría de los casos de LMC. Otro punto de corte es en el exón 2; isoforma *BCR* menor (*BCR-m*): transcripto p190 (e1-a2), presente en alrededor del 80% de las leucemias linfoblásticas agudas Ph⁺ de los niños y en el 50% de los adultos, siendo infrecuente en los pacientes con LMC. Y, por último, el punto de corte en el exón 19; isoforma *BCR*-micro (*BCR-μ*): transcripto p230 (e3-a2) presente en muchos pacientes con LMC neutrofílica (LMC-n). Por consiguiente, los cuatro

Figura 1. Regulación fisiológica de la proteína ABL normal y desregulación de BCR-ABL1 en procesos celulares claves como la proliferación, adherencia y apoptosis.



Adaptado: Leucemia mieloide crónica – Avances en biología y nuevos enfoques de tratamiento.
New England of Medicine October 9, 2003

puntos de corte posibles del *BCR* producen cuatro genes quiméricos diferentes, lo que resulta en un total de tres productos proteicos distintos (Figura 2)⁽⁵⁾. Por ello es fundamental la detección del transcripto involucrado al diagnóstico para realizar un correcto seguimiento de la enfermedad a lo largo del tratamiento.

Evaluación del tratamiento

Dada la baja incidencia de LMC en niños y adolescentes, para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de los mismos se emplean las guías y recomendaciones establecidas para adultos tanto de *European Leukemia Net* (ELN)⁽⁸⁾ como las del *Comprehensive Cancer Network* (NCCN)⁽⁹⁾, aunque no existe evidencia que avale el uso de éstas en pediatría.

Los resultados publicados por grandes grupos internacionales coinciden en que el tratamiento con imatinib (Ima) es una terapia de primera línea adecuada para pacientes pediátricos con LMC en fase crónica, a pesar de que la mayoría de estas publicaciones sólo presentan cohortes con un número pequeño de

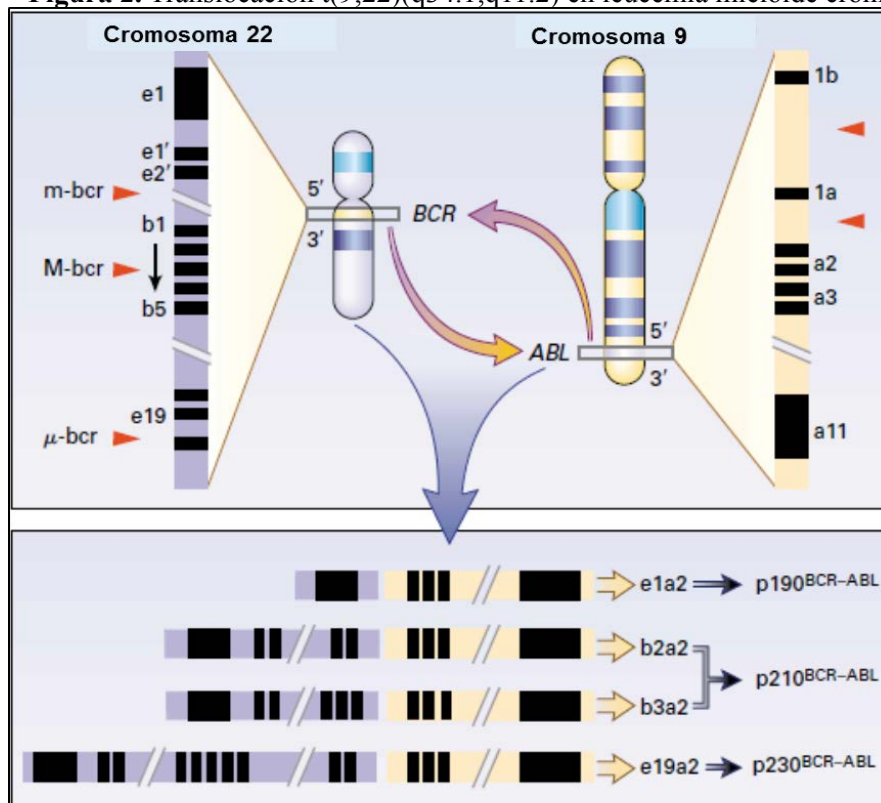
pacientes⁽¹⁰⁻¹³⁾.

Por tal motivo, el monitoreo molecular proporciona información valiosa sobre la respuesta al tratamiento en pacientes con LMC.

Dicho monitoreo molecular debe hacerse por retro-transcripción seguida de PCR cuantitativa (RT-qPCR) para estimar la cantidad de *BCR-ABL1* en relación con un gen control, siendo los más empleados *ABL1*, *GUS* o *BCR*. En nuestro medio se emplea *ABL1*. Los resultados se deben expresar en escala internacional como una relación porcentual.

La mayoría de los pacientes con LMC en fase crónica tratados con Ima logran una respuesta citogenética completa (RCyC) y ésta se mantiene a largo plazo. Como se observó en el estudio internacional aleatorizado de interferón versus STI571 (IRIS), el 86% de los pacientes alcanzaron RCyC, y un gran número de pacientes lograron además una respuesta molecular mayor (MMR), definida en dicho ensayo como una reducción de 3 log de los niveles del transcripto *BCR-ABL1* respecto al valor medio de *BCR-ABL1* presente al diagnóstico (basal). Esta

Figura 2. Translocación t(9;22)(q34.1;q11.2) en leucemia mieloide crónica



Adaptado de: La Biología de la Leucemia Mieloide Crónica
New England of Medicine July 15, 1999

reducción de 3 log se definió posteriormente como respuesta molecular de 3 log (RM3) $\leq 0,1\%$ *BCR-ABL1* en la escala internacional (IS del inglés)⁽¹⁴⁾. Es mandatorio para cada laboratorio obtener el factor de conversión para informar los resultados en dicha escala, ya sea mediante un laboratorio de referencia o por medio de calibradores secundarios validados por la Organización Mundial de la Salud⁽¹⁵⁻¹⁷⁾.

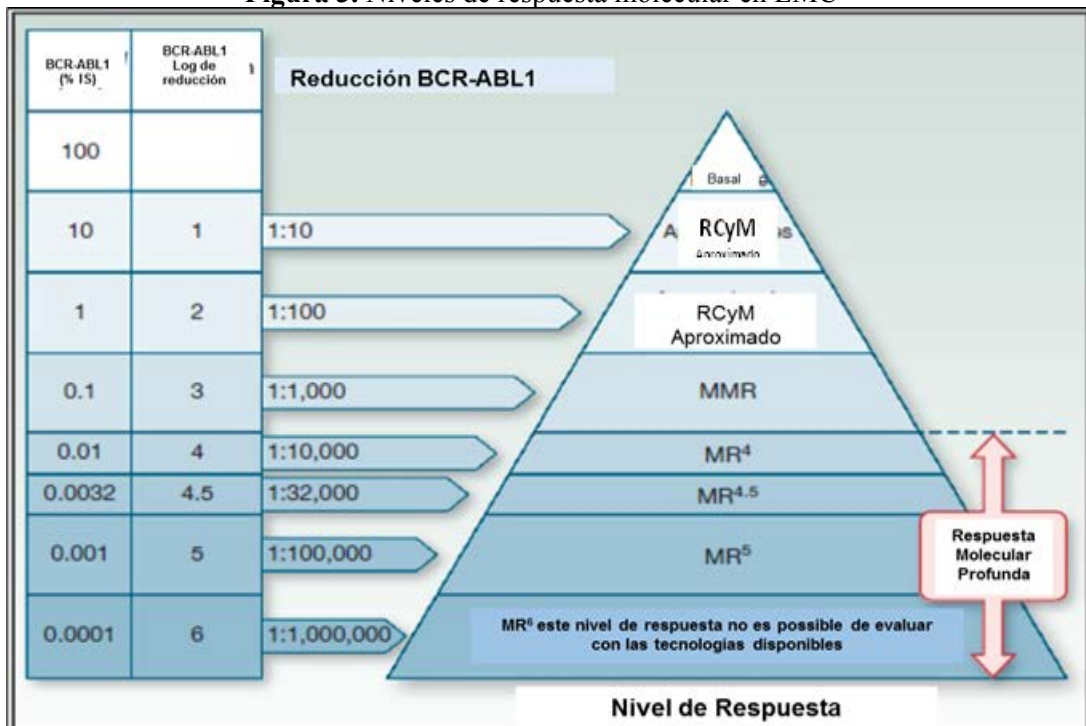
La evolución en el conocimiento de la fisiopatología y la disponibilidad de distintos tratamientos hizo evidente que muchos pacientes adultos tratados con Ima alcanzan niveles profundos de respuesta, y todavía más profundos y rápidos en pacientes tratados con dasatinib o nilotinib en primera línea^(18,19), además en este último tiempo tomó mucha relevancia, dado su impacto pronóstico, la evaluación de la cinética de reducción de *BCR-ABL1* y tal es así que numerosos estudios en adultos han demostrado que una respuesta molecular temprana al tratamiento predice el resultado clínico en términos de lograr RMM al año, respuestas moleculares profundas y, además, persistencia de dichas respuestas en el

tiempo^(20,21).

Por su parte, Millot y col evaluaron el impacto del nivel de *BCR-ABL1* al tercer mes del inicio del tratamiento con Ima en una cohorte de 40 niños con LMC: los niños con una relación *BCR-ABL1/ABL1* superior al 10% a tercer mes presentaban un tamaño de bazo más grande y un mayor recuento de glóbulos blancos en comparación con aquéllos de *BCR-ABL1/ABL1* $\leq 10\%$; por otro lado, niños con *BCR-ABL1/ABL1* $\leq 10\%$ al tercer mes tuvieron tasas más altas de RCyC y RMM a los 12 meses en comparación con aquéllos con *BCR-ABL1/ABL1* $> 10\%$. Con una mediana de seguimiento de 71 meses, los pacientes con niveles de *BCR-ABL1/ABL1* $\leq 10\%$ al tercer mes, lograron mejor sobrevida libre de progresión. Concluyendo que la respuesta molecular temprana a los 3 meses predice el resultado en niños con LMC tratados con Ima⁽²²⁾.

Toda esta evidencia ha planteado la necesidad de redefinir las respuestas moleculares incorporando el concepto de profundidad de respuesta molecular. Dichos criterios contemplan respuestas moleculares

Figura 3. Niveles de respuesta molecular en LMC



Adaptado: Deep Molecular Response in Chronic Myeloid Leukemia: The New Goal of Therapy? Clin Cancer Res; 20(2) January 15, 2014

de 4, 4,5 y 5 log (RM4, RM4.5 y RM5)⁽²³⁾. Los criterios de respuesta se detallan en la Figura 3.

Un aspecto muy importante que se incorpora a partir de aquí es la calidad del ARN medida en copias del gen control. En este sentido se ha puesto un gran esfuerzo por parte de los grupos internacionales y locales para la estandarización de las recomendaciones de cada paso del procedimiento, resaltando la importancia particular de la toma de muestra, en especial del volumen de 10-20 mL de sangre periférica durante el seguimiento, así como todo aquello que influya en la calidad del ARN para poder lograr los objetivos de profundidad deseados^(24,25).

Dichas definiciones son particularmente importantes en el contexto de estudios que se realizan en pacientes con respuestas moleculares profundas y sostenidas con el objeto de discontinuar el tratamiento. *Stop Imatinib* (STIM) es un estudio prospectivo, multicéntrico, no aleatorio que evaluó la suspensión del tratamiento con Ima en aquellos pacientes mayores de 18 años, con > 2 años de tratamiento y una mediana de seguimiento de 17 meses. Sesenta y nueve pacientes tuvieron al menos 12 meses de seguimiento. Cerca del 61% (42/69 pacientes) recayeron (40 antes de los 6 meses, un paciente al mes 7 y uno al mes 19). A los 12 meses, la probabilidad de respuesta molecular completa (RMC) para estos 69 pacientes fue del 41% (IC del 95%: 29-52). Por otra parte, todos los pacientes que recayeron respondieron a la reintroducción de Ima: 16 de los 42 pacientes que habían recaído mostraron disminuciones en sus niveles de *BCR-ABL1*, y 26 lograron una RMC que se sostuvo luego de reiniciar el tratamiento con Ima⁽²⁶⁾.

En un análisis más reciente se evaluó la discontinuación de ITK en 755 adultos que habían recibido por 3 años tratamiento con un inhibidor y presentaban una respuesta molecular mayor de al menos un año. La sobrevida libre de recaída molecular para estos pacientes fue del 61% a los 6 meses y 50% a los 2 años⁽²⁷⁾.

Con lo cual aquellos pacientes con LMC que han logrado respuestas moleculares profundas podrían considerarse para la interrupción del ITK, particularmente aquellos que han estado en respuesta molecular profunda durante mucho tiempo. Suspender el tratamiento podría evitar a los pacientes los efectos secundarios del tratamiento y reducir el gasto en salud.

Todo esto resalta la importancia de los monitoreos continuos y cercanos que deben realizarse a estos pacientes y que los mismos deben llevarse a cabo en laboratorios especializados en el área.

Por su parte, el registro internacional de pacientes pediátricos con LMC es una iniciativa del comité de LMC del Grupo internacional Berlín-Frankfurt-Münster (i-BFM) el cual sugiere que aquellos pacientes tratados con Ima durante al menos 3 años y que mantienen respuestas moleculares profundas durante al menos 2 años podrían interrumpir el tratamiento.

Un trabajo reciente, el *STOP IMAPED*, analizó la suspensión de ITK en catorce pacientes pediátricos con LMC en fase crónica y observó que la mayoría experimentaban recaída molecular, mientras que sólo el 28,5% permaneció en remisión molecular profunda, en comparación con el estudio STIM donde el porcentaje fue del 50%⁽²⁸⁾. La discontinuación de los ITK en pediatría debería ser sólo experimental y llevarse a cabo en el contexto de grupos colaborativos internacionales.

Conclusión

La LMC es una de las patologías donde el conocimiento de las bases biológicas de la enfermedad, la utilización de terapias dirigidas y la utilización de herramientas de laboratorio para su monitoreo a nivel molecular, han tenido un crecimiento rápido y transformador en términos de lograr una mayor sobrevida en los pacientes. No obstante, la naturaleza biológica entre los pacientes pediátricos y adultos presenta diferencias, más allá de las que involucran al transcrita *BCR-ABL1*, el estudio de la respuesta inmune entre niños y adultos también es un desafío, aunque por el momento sólo puede especularse acerca de las causas del diferente comportamiento de la enfermedad en ambos grupos etarios.

Es evidente que para definir los criterios a emplear en la LMC pediátrica, se necesita un mayor número de ensayos prospectivos para aumentar la base de datos y ampliar el conocimiento y las posibilidades de discontinuar el tratamiento con imatinib. Esto permitiría una utilización e interpretación óptimas de los datos provistos por la determinación cuantitativa de enfermedad residual que posibilite predecir una respuesta óptima/subóptima para disminuir las probabilidades de una recaída molecular.

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

Bibliografía

1. Millot F, Traore P, Guilhot J y col. Clinical and Biological Features at Diagnosis in 40 children with Chronic Myeloid Leukemia. *Pediatrics*. 2005;116:140.
2. Hijiya N, Millot F, Suttorp M. Chronic Myeloid leukemia in Children. Clinical findings, management, and unanswered questions. *Pediatr Clin N Am*. 2015;62:107-119
3. Belgaumi AF, Al-Shehri A, Ayas M y col. Clinical characteristics and treatment outcome of pediatric patients with chronic myeloid leukemia. *Haematologica*. 2010;95:1211-5.
4. Deininger MWN, Goldman JM y Melo JV. The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2000;96:3343-3356.
5. Faderl S, Talpaz M, Kantarjian HM y col. The biology of chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 1999;15;341(3):164-72.
6. Goldman JM y Melo JV. Chronic myeloid leukemia - Advances in biology and new approaches to treatment. *N Engl J Med* 2003; 349:1451-64.
7. Druker BJ. Translation of the Philadelphia chromosome into therapy for CML. *Blood*. 112;4808-4817.
8. Baccarani M, Deininger MW, Rosti G et al. European Leukemia Net recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood* 2013; 122(6):872-884.
9. Chronic Myelogenous Leukemia: National Comprehensive Cancer Network; 2015. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology.
10. Champagne MA, Capdeville R, Krailo M y col. Imatinib mesylate (STI571) for treatment of children with Philadelphia chromosome-positive leukemia: Results from a Children's Oncology Group phase 1 study. *Blood*. 2004;104(9):2655-2660.
11. Suttorp M y Millot F. Treatment of pediatric chronic myeloid leukemia in the year 2010: Use of tyrosine kinase inhibitor and stem-cell transplantation. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2010; 368-76.
12. Andolina JR, Neudorf SM y Corey SJ. How I treat childhood CML. *Blood*. 2012;119:1821-1830.
13. De la Fuente J, Baruchel A, Biondi A, Millot F BFM Group (iBFM). Managing children with chronic myeloid leukaemia (CML). Recommendations for the management of CML in children and young people up to the age of 18 years. *Br J Haematol*. 2014;167:33-47.
14. Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG y col. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2006;355(23):2408-2417.
15. White H, Deprez L, Corbisier P, Cross NCP y col. A certified plasmid reference material for the standardization of BCR-ABL1 mRNA quantification by real-time quantitative PCR. *Leukemia*. 2015;29:369-376.
16. Cross NCP, White HE, Erns T y col. Development and evaluation of a secondary reference panel for BCR-ABL1 quantification on the International Scale. *Leukemia*. 2016;1-9.
17. Ruiz MS 1, Cross NCP, Larripa I, Bianchini M y col. Standardization of molecular monitoring for chronic myeloid leukemia in Latin America using locally produced secondary cellular calibrators. *Leukemia*. 2016; 0:2258-2260.
18. Kantarjian H M, Shah N P, Cortes J E y col. Dasatinib or imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: 2-year follow-up from a randomized phase 3 trial (DASISION). *Blood*. 2012;119:1123-1129.
19. Larson R A, Hochhaus A, Hughes T P y col. Nilotinib vs imatinib in patients with newly diagnosed Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia in chronic phase: ENESTnd 3-year follow-up. *Leukemia*. 2012;26:2197-2203.
20. Marin D, Ibrahim AR., Lucas C y col. Assessment of BCR-ABL1 Transcript Levels at 3 Months Is the Only Requirement for Predicting Outcome for Patients With Chronic Myeloid Leukemia Treated With Tyrosine Kinase Inhibitors. *J Clin Oncol*. 2012;30:232-238.
21. Iriyama N, Fujisawa S, Yoshida C y col. Shorter halving time of BCR-ABL1 transcripts is a novel predictor for achievement of molecular responses in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia treated with dasatinib: Results of the D-first study of Kanto CML. *Am. J. Hematol*. 2015;90:282-287.
22. Millot F, Guilhot J, Baruchel A y col. Impact of early molecular response in children with chronic myeloid leukemia treated in the French Glivec phase 4 study. *Blood*. 2014;124:2408-2410.

23. Cross NCP, White HE, Müller MC, y col. Standardized definitions of molecular response in chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2012;26:2172-2175.
24. Cross NCP, White HE, Colomer D y col. Laboratory recommendations for scoring deep molecular responses following treatment for chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2015;29(5):999-1003.
25. Foroni L, Wilson G, Gerrard G, Cross NCP y col. Guidelines for the measurement of BCR-ABL1 transcripts in chronic myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 2011; 153(2):179-90.
26. Mahon FX, Réa D, Guilhot J y col. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial. *Lancet Oncol*. 2010;11(11):1029-35.
27. Saussele S, Richter J, Guilhot J et al. Discontinuation of tyrosine kinase inhibitor therapy in chronic myeloid leukaemia (EURO-SKI): a prespecified interim analysis of a prospective, multicentre, non-randomised, trial. *Lancet Oncol*. 2018; .19(6):747-757.
28. De Bruijn CMA, Millot F, Suttorp M y col. Discontinuation of imatinib in children with chronic myeloid leukaemia in sustained Deep molecular remission: results of the STOP IMAPED study. *Br J Haematol*. 2019;185(4):718-724.



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.

Controversias en linfomas indolentes Beneficio indiscutible en el mantenimiento con rituximab por dos años en pacientes con linfoma folicular que alcanzan remisión completa luego de inmunoterapia de primera línea.

Controversies in indolent lymphomas. Unquestionable
benefit with rituximab maintenance for two years in
patients with follicular lymphoma who achieve complete
remission after first line immunochemotherapy.

Mahuad CV
Hospital Alemán, Buenos Aires

Cmahuad@hospitalaleman.com



CONTROVERSIAS
EN LINFOMAS
INDOLENTES

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Número Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 268-277
Octubre 2019

Palabras claves: linfoma folicular,
rituximab,
mantenimiento.

Keywords: follicular lymphoma,
rituximab,
maintenance.

Introducción

En los países occidentales, el linfoma folicular (LF) es el segundo linfoma en frecuencia luego del linfoma difuso a grandes células B (LDCGB)^(1,2). Representa aproximadamente el 35% de todos los linfomas no Hodgkin (LNH) y el 70% de los linfomas indolentes. La edad media al diagnóstico es de 65 años y su incidencia es ligeramente superior en familiares de individuos con diagnóstico de LF⁽¹⁾.

El LF se caracteriza por presentar un curso clínico crónico e indolente y, exceptuando los pocos casos reales de enfermedad localizada y con baja carga

tumoral, se trata de condiciones incurables, cuya historia natural es de recaídas y, en una proporción de los casos, transformación a histologías más agresivas (TH)⁽¹⁻⁶⁾. Cuando esto ocurre, el pronóstico es desfavorable^(1,4-6). La TH ocurre en un 10-70% de los pacientes a lo largo de la evolución clínica, con un riesgo de alrededor del 2-3% por año; se asocia a una progresión rápida de las adenopatías, enfermedad extranodal (fuera de la médula ósea, síntomas B, hipercalcemia y elevación de la LDH)⁽¹⁾.

Algunos pacientes con diagnóstico de LF son manejados con estrategias de observación, ante la ausen-

cia de necesidad de intervención inmediata con tratamiento antineoplásico. Para aquéllos en quienes la intervención terapéutica se halla indicada (ejemplo: alta carga tumoral, síntomas sistémicos, conglomerados voluminosos, etc.), la combinación de anti CD20 a la estrategia de quimioterapia (R-quimioterapia) ha demostrado un impacto favorable en el tiempo a la progresión, sobrevida y tasas de transformación^(1,2). Sin embargo, el debate sobre el esquema de inducción inicial se encuentra aún abierto. Los regímenes de inmuno-quimioterapia más comúnmente utilizados se conforman con la combinación de rituximab (R) con: ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, y prednisona (R-CHOP); ciclofosfamida, vincristina, y prednisona (R-CVP); o bendamustina (R-Benda)⁽⁷⁻⁹⁾.

Durante la última década, el mantenimiento con R luego de la quimioterapia inicial se introdujo con la esperanza de mejorar el desenlace del LF a largo plazo. Hasta la fecha, los diferentes ensayos prospectivos y retrospectivos probaron beneficio en el tiempo al próximo tratamiento (TNT), supervivencia libre de (PFS) pero no habían demostrado en forma contundente beneficios en la supervivencia global (OS)⁽¹⁰⁻¹⁷⁾.

Discusión

La estrategia de mantenimiento ideal debe reunir las siguientes características: beneficio significativo, tolerancia adecuada, eventos adversos mínimos y administración conveniente⁽¹⁸⁾. Las dos estrategias de mantenimiento con R más aceptadas corresponden a 1 dosis de 375 mg/m² ev o 1400 mg sc cada 2-3 meses durante 1-2 años. En base a comparaciones retrospectivas, una infusión cada 2 meses podría ser más tóxica, sin mayor eficacia⁽¹⁸⁾.

Dentro de los argumentos a favor del mantenimiento con R se encuentran: el beneficio demostrado en la PFS y supervivencia libre de eventos (EFS) luego del tratamiento con R como monoterapia^(11,18), luego de quimioterapia e inmuno-quimioterapia^(12,13,17,18), la ausencia de impacto negativo en la calidad de vida de los pacientes^(12,18-20), su efecto en la prevención de la TH^(2,3,18), su costo-efectividad⁽²¹⁾ y el beneficio de su aplicación subcutánea⁽²²⁾.

El único aspecto que, ante esta evidencia, podría ser detractor del mantenimiento con R luego de la primera remisión completa, sería la duda acerca del beneficio en la OS de estos pacientes; y sólo en fun-

ción del objetivo que nos planteemos para el manejo del LF. Siendo hasta la fecha una patología de curso crónico y potencialmente incurable en estadios avanzados, alcanzar beneficio en la PFS, EFS, TNT impresionan ser desenlaces clínicos relevantes, teniendo en cuenta riesgos y beneficios de esta intervención.

En los próximos párrafos quedará demostrado el beneficio del mantenimiento con R luego de primera línea de inmunoquimioterapia en el LF, tanto en la OS como en el riesgo de TH.

Estudio colaborativo Nórdico⁽²⁾

Es un estudio colaborativo entre Dinamarca y Finlandia en el cual se reportan los datos correspondientes a dos cohortes poblacionales con diagnóstico de LF, en las cuales se estudió el efecto del mantenimiento con R luego de la primera línea de tratamiento sobre el riesgo de TH en pacientes tratados con R mantenimiento siguiendo o no la estrategia de intención de tratar.

La *cohorte investigacional* se conformó por 733 pacientes con diagnóstico confirmado de LF o LDCGB entre 1990 y 2015, identificados a través del Registro Nacional del Patología Danés. La TH fue definida a partir de una biopsia que probara LF grado 1-3A, seguido de una biopsia que informara LF grado 3B o LDCGB. Fueron elegibles los pacientes con diagnóstico de LF entre 2000-2015, que hubieran completado la primera línea con R-quimioterapia, que estuvieran vivos sin evidencia de recaída/progresión o TH de acuerdo a la evaluación realizada al menos 2 meses luego de la finalización del tratamiento de inducción.

La cohorte de validación, se conformó por una serie independiente de 190 pacientes con diagnóstico de LF grado 1-3A tratados en el Centro Oncológico del Hospital Universitario de Helsinki entre 2005-2015. La decisión de mantenimiento con R u observación fue tomada en cada caso individual a discreción del médico tratante, siguiendo las recomendaciones nacionales e internacionales. Para ambas cohortes el R se administró en dosis de 375 mg/m² o 1400 mg sc cada 2 meses por 2 años. En la cohorte investigacional, 364 pacientes recibieron R mantenimiento; 369, no (Figura 1).

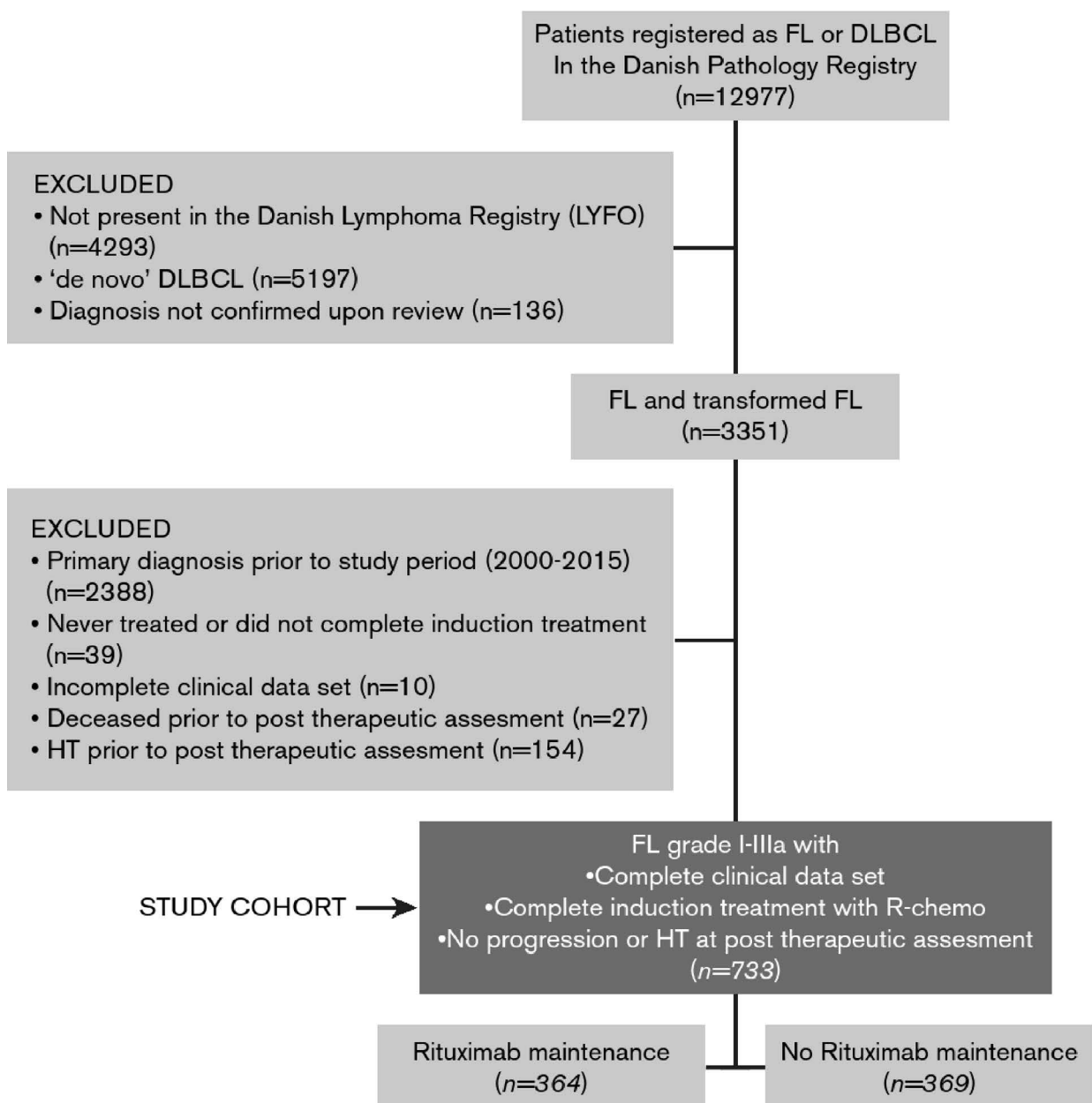
En la Tabla 1 y figura 2 se describe el desenlace en función de la estrategia terapéutica utilizada en ambas cohortes. El tiempo medio de seguimiento fue de

4.7 años (0.2-14 años) para la totalidad de la cohorte, de 3.8 años para los pacientes consolidados con mantenimiento con R (0.6-11.9 años) y de 5.7 años para los pacientes que no recibieron mantenimiento (0.2-14 años). El período más corto de seguimiento en pacientes que recibieron mantenimiento con R se debe al uso menos frecuente de R mantenimiento en las etapas iniciales del período de estudio.

A pesar del peor perfil de riesgo del grupo que recibió mantenimiento con R, esta cohorte presentó una OS, PFS y supervivencia libre de transformación (TFS) a 5 años significativamente superior: (89 vs 81%; $p=0.01$; 72% vs 60%; $p<0.001$; 84% vs 76%; $p=0.002$, respectivamente).

En el análisis multivariado realizado en la *cohorte investigacional* ajustado a factores pronóstico se-

Figura 1. Diagrama de la cohorte *investigacional*⁽²⁾



leccionados (FLIPI, uso de antraciclinas en el esquema de inducción, histología LF 3A, enfermedad voluminosa y sexo), el mantenimiento con R mejoró significativamente la OS (diferencia de riesgo (RD), 8%; $p=0.019$), PFS (RD, 15%; $p<0.001$) y TFS (RD, 10%; $p<0.007$).

Respecto del impacto del mantenimiento con R en el riesgo de TH y tiempo a la transformación (TTT), de los 733 pacientes, 60 presentaron TH hacia linfomas agresivos: 54 (90%) presentaron transformación a LDCGB y 6 (10%) a LF grado 3B. No hubo diferencia en términos de transformación entre los pacientes que recibieron o no mantenimiento con R. Se observó, sin embargo, una reducción global del riesgo de TH en los pacientes tratados con mantenimiento (Figura 3, $p=0.049$).

En términos de TH, el beneficio del mantenimiento con R impresiona ser más evidente en pacientes que no fueron tratados con antraciclinas en primera línea. El TTT fue significativamente más corto en pacientes que no recibieron antraciclinas ni mantenimiento (2.6 años vs 1.3 años; $p=0.022$). En estos pacientes, la adición de mantenimiento con R mejoró el TTT hasta niveles comparables con aquéllos que recibieron R-CHOP/CHOP-like. Madsen y colaboradores, también reportan en este trabajo que, una vez que se produjo la TH, los pacientes no presentaron desenlace diferente, hayan tenido o no mantenimiento con R⁽²⁾.

En la *cohorte de validación*, 87 pacientes recibieron mantenimiento y 103 pacientes, no. En la tabla 1 y figura 4 se muestra el impacto del mantenimiento con R en la OS, PFS, TFS en función del tratamiento de inducción utilizado.

En base a estos resultados, Madsen y colaboradores concluyeron que los pacientes tratados en primera

línea con R-quimioterapia y expuestos a mantenimiento con R, mejoraron no sólo la PFS a 5 años, sino también la OS, independientemente de los factores pronóstico iniciales. Asimismo, se observó en este grupo una reducción en el riesgo de transformación (evento no observado en la cohorte de validación)⁽²⁾.

En diversos estudios prospectivos y retrospectivos se plasmó el beneficio del mantenimiento con R en el desenlace de pacientes con diagnóstico de LF^(11,12,14,23). Ello fue principalmente evidente para la PFS. En el estudio PRIMA, Salles y colaboradores⁽¹²⁾ demostraron beneficio del mantenimiento con R luego de inducción con R-quimioterapia en la tasa de remisión y PFS, pero no en la OS en los pacientes tratados con mantenimiento con R. Vitolo y colaboradores⁽²³⁾, en un ensayo que evaluó el rol del mantenimiento con R luego de inducción con R-quimioterapia en mayores de 60 años (esquema de mantenimiento acotado a 4 cursos bimensuales), no evidenciaron diferencias en la PFS ni la OS entre los grupos de estudio. Por su parte, el ECOG 1496⁽¹⁷⁾ sí demostró beneficio en la PFS en el mantenimiento con R en un esquema de aplicación cada 3 semanas por 6 cursos; tampoco se evidenció prolongación en la OS en pacientes tratados con mantenimiento luego del esquema de inducción con R-quimioterapia en este estudio.

Sin embargo, varios de los estudios mencionados más arriba, fueron incluidos en un meta análisis de pacientes individuales (2315 pacientes con diagnóstico de LF) enrolados en 7 ensayos aleatorizados controlados, de los cuales 5 fueron conducidos en primera línea⁽²⁴⁾. Este análisis demostró beneficio del mantenimiento con R en la OS en todos los pacientes, independientemente de las características

Tabla 1. Supervivencia global (OS), supervivencia libre de progresión (PFS) y supervivencia libre de transformación (TFS) en función de la estrategia terapéutica utilizada en ambas cohortes⁽²⁾

	5-y OS (95% CI), %			5-y PFS (95% CI), %			5-y TFS (95% CI), %		
	-MR	+MR	P	-MR	+MR	P	-MR	+MR	P
Training cohort									
All	81 (76-85)	89 (84-93)	.001	60 (55-65)	72 (66-77)	<.001	76 (71-80)	84 (79-84)	.002
R-CHOP/CHOP-like*	81 (73-88)	93 (85-99)	.003	60 (52-69)	77 (66-89)	.004	77 (69-85)	88 (79-98)	.021
R-CVP/CVP-like*	81 (74-88)	87 (79-96)	NS	60 (51-68)	67 (57-78)	NS	76 (68-83)	81 (72-91)	NS
Validation cohort									
All	81 (69-88)	89 (77-95)	.046	54 (42-64)	70 (57-80)	.004	92 (82-96)	93 (82-98)	NS

Bold values represent significant *P* values ($P<.05$).

*Pseudo values approach, nonproportional hazards.

Figura 2. Supervivencia global (OS), supervivencia libre de progresión (PFS) y supervivencia libre de transformación (TFS) en la *cohorte investigacional* en función de la estrategia terapéutica utilizada. A OS, B PFS, C TFS según el tipo de tratamiento de inducción con y sin mantenimiento con R.

Tiempo calculado a partir del inicio del tratamiento de primera línea⁽²⁾.

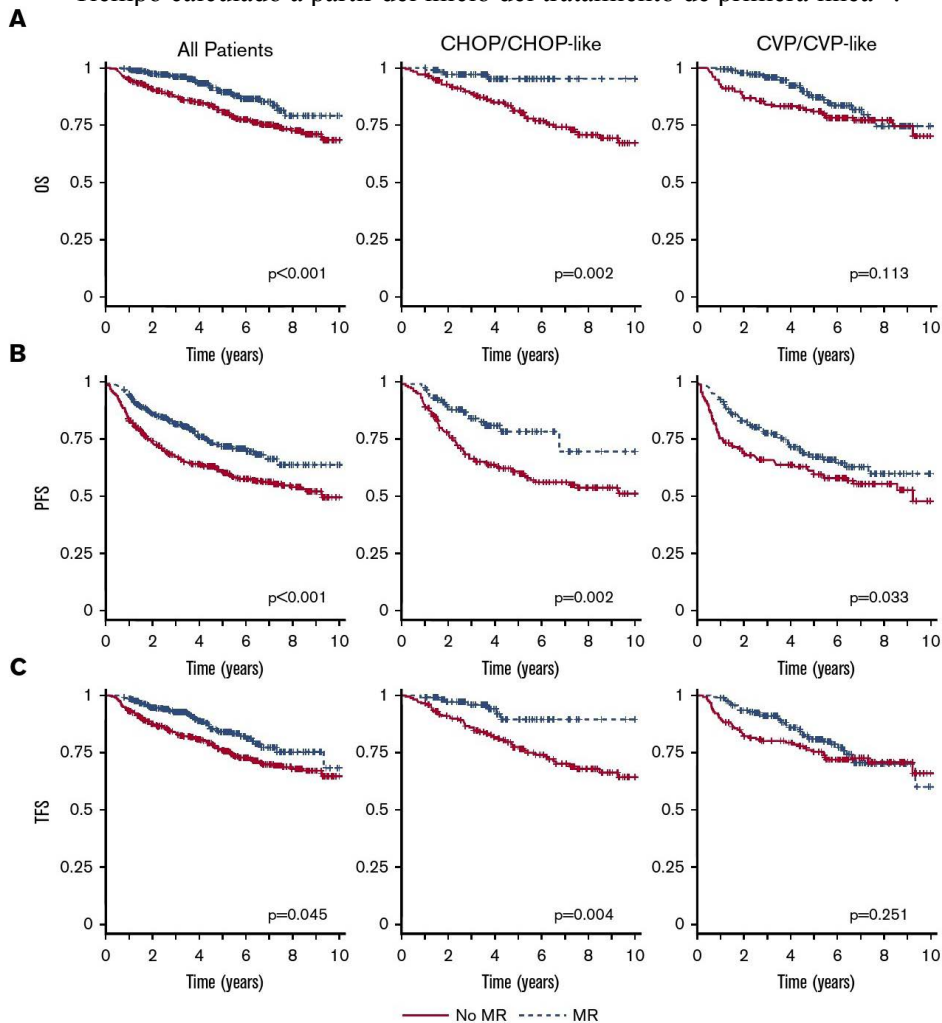


Figura 3. Incidencia acumulada de transformación histológica en función del régimen de inducción utilizado y la realización o no de mantenimiento con R en la *cohorte investigacional*. A todos los pacientes, B CHOP/CHOP-like y C CVP/CVP-like. Tiempo calculado desde el inicio del tratamiento de inducción⁽²⁾.

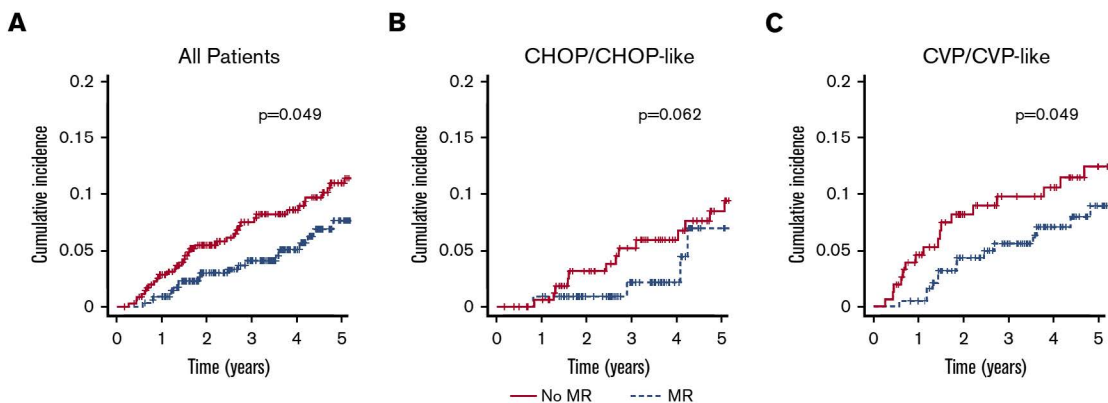


Figura 4. Supervivencia global (OS), supervivencia libre de progresión (PFS) y supervivencia libre de transformación (TFS) en la cohorte de validación en función de la estrategia terapéutica utilizada. **A** OS, **B** PFS, **C** TFS según el tipo de tratamiento de inducción con y sin mantenimiento con R. Tiempo calculado a partir del inicio del tratamiento de primera línea⁽²⁾.

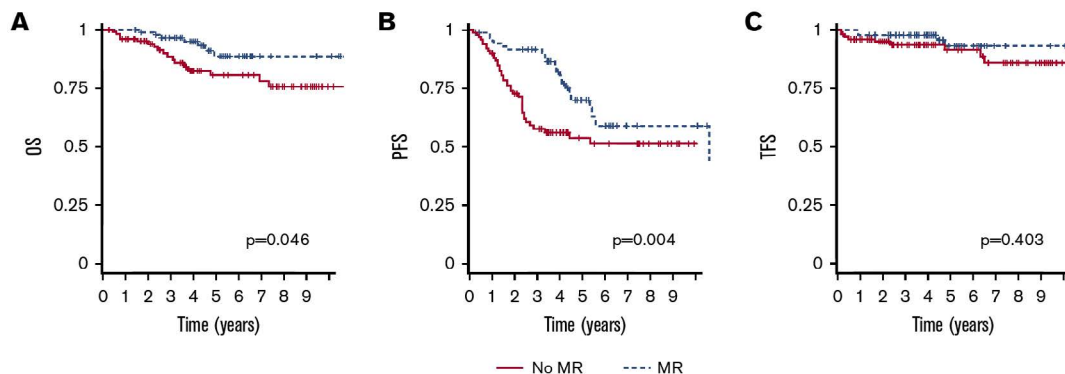


Figura 5. Forest plot de la supervivencia global (OS) del mantenimiento con rituximab vs no manteni-

de la enfermedad, comparado con la observación. Asimismo, concluyen que el mantenimiento con R debería ser indicado luego de una inducción con inmunoterapia exitosa (R-CVP o R-CHOP) (Figura 5). Expresan que existe incertidumbre acerca de si este beneficio se sostiene cuando el paciente ha recibido R en su primera inducción (en pacientes recaídos/refractarios). Del mismo modo, concluyen que el mantenimiento con R luego de la inducción con R-bendamustina, comparado con rituximab en el momento de la progresión, debe ser aún explorado.

Otro de los aspectos valorados en el meta análisis realizado por Vidal y colaboradores, fue la presencia de eventos adversos vinculables al mantenimiento con R. En la tabla 2 se detallan los resultados. Efectivamente, el mantenimiento con R se asoció a mayor riesgo de infección⁽²⁴⁾, sin embargo, y así como fuera reportado por otros investigadores, ello no impactó negativamente en el beneficio claro en el desenlace de los pacientes con LF tratados con mantenimiento con R luego de la primera línea de R-quimioterapia⁽²⁰⁾.

Si, a pesar de lo expuesto, persistiera la controversia acerca del beneficio del mantenimiento con R en este escenario clínico, se muestran a continuación los resultados presentados en el pasado 15-ICML por el Dr. Massimo Federico:

Mantenimiento orientado en la respuesta en el LF. Resultados del análisis interino del ensayo FOLL12 conducido por la *Fondazione Italiana*

Linfomi⁽²⁵⁾

El ensayo FOLL12 partió de las siguientes premisas:

- 1- R-quimioterapia es el estándar de cuidado para pacientes con diagnóstico de LF y criterios de tratamiento.
- 2- El mantenimiento con R durante 2 años retrasa la progresión de la enfermedad, pero sin aportar beneficio en la OS y con mayor toxicidad.
- 3- La respuesta metabólica completa (medida por PET-TC) y molecular (MRD) se asocian a mejores desenlaces en estos pacientes.

Por lo cual los objetivos principales fueron:

- Suprimir el mantenimiento con R en los pacientes que alcanzaran respuesta completa (RC) metabólica y molecular.
- Intensificar el mantenimiento en pacientes que no alcanzaran estos objetivos.

FOLL12 es un ensayo multicéntrico, aleatorizado, fase 3, de no inferioridad que compara el tratamiento estándar versus mantenimiento con R adaptado a la respuesta a la primera línea de tratamiento, en pacientes con diagnóstico de LF II-IV de alto riesgo acorde al índice FLIPI2, que requieren tratamiento. Todos los pacientes recibieron inmunoterapia por 6 ciclos con R-CHOP o R-bendamustina, ambos seguidos por 2 dosis adicionales de R. Luego del esquema de inducción, los pacientes de la rama estándar iniciaron mantenimiento bimensual con R hasta por 2 años. Los pacientes en la rama expe-

miento basados en datos de pacientes individuales y datos de resumen⁽²⁴⁾.

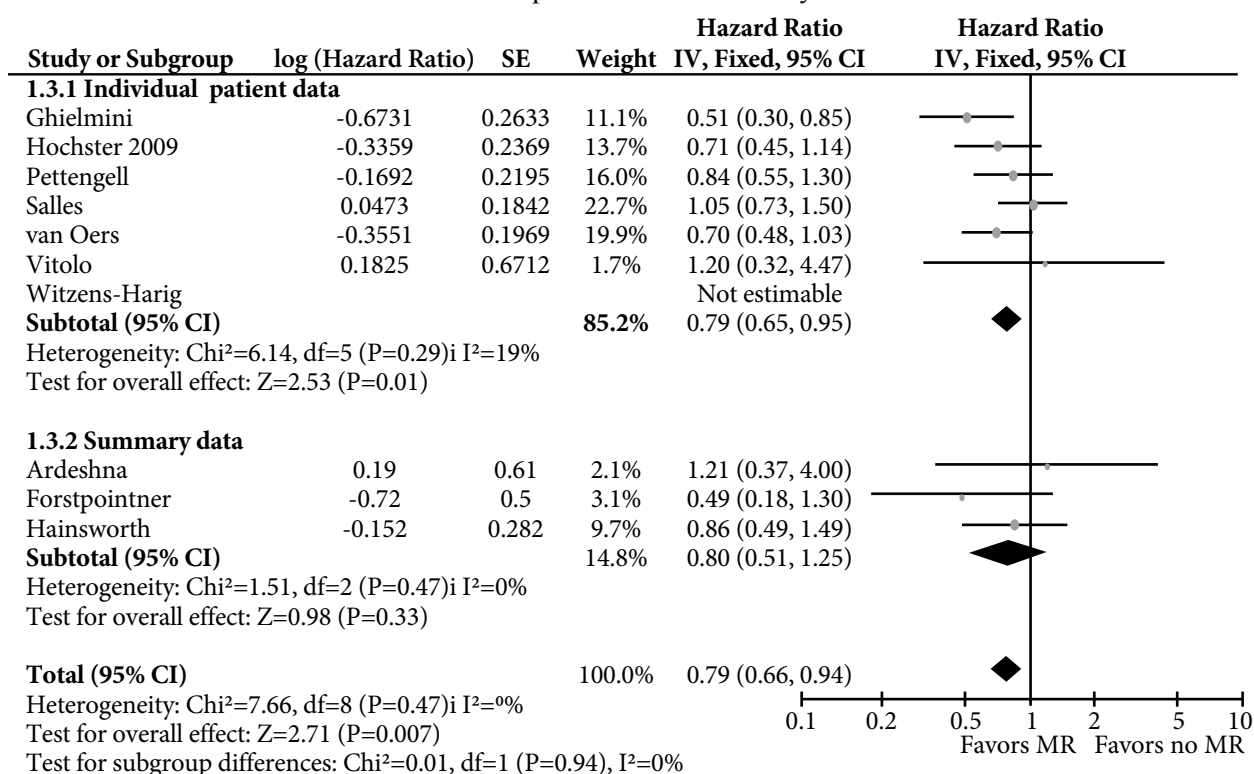


Tabla 2. Eventos adversos ocurridos en pacientes tratados con mantenimiento con R versus observación⁽²⁴⁾

Adverse event	Hazard ratio MR versus observation	95% confidence interval	Rate with MR	Rate without MR
Any, grade 1-4	1.27	1.12, 1.45	52%	40%
Any, grade 3-4	1.31	1.08, 1.58	23%	17%
Infection, grade 1-4	1.41	1.2, 1.66	33.6%	23.6%
Infection, grade 3-4	1.48	1.04, 2.11	7.1%	4.9%
Neutropenic fever	0.78	0.43, 1.43	1.8%	2.1%

rimental fueron tratados acorde a la respuesta metabólica establecida en forma centralizada por PET TC y molecular:

- respuesta metabólica y molecular completa: fin de tratamiento.
- respuesta metabólica completa y molecular incompleta: 4 dosis de R semanal.
- ausencia de respuesta metabólica (Deauville puntaje 4-5): radioinmunoterapia con ibritumomab tuxetan seguido de mantenimiento estándar.

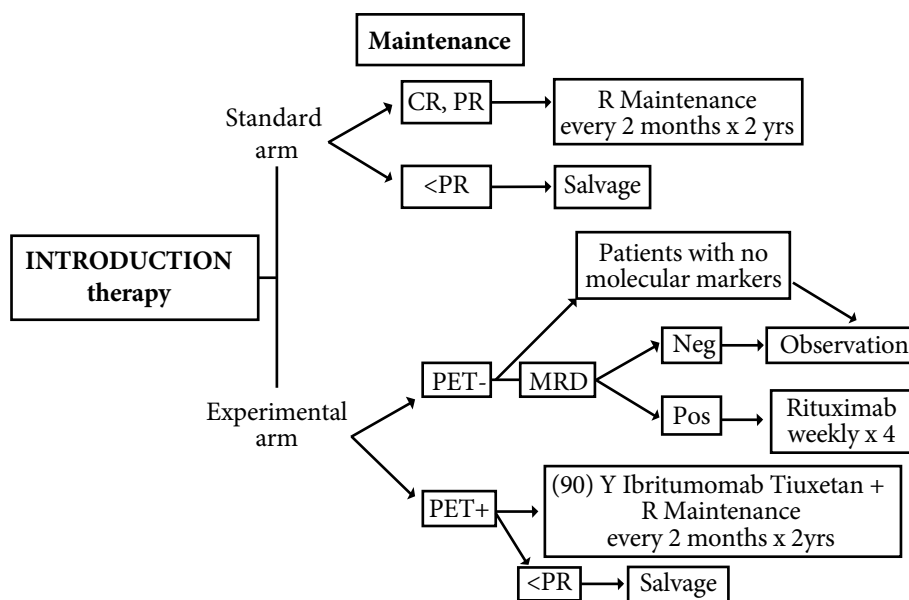
El desenlace primario del estudio fue la PFS a 3 años por intención de tratar. Se estimó un número de 770 pacientes evaluables, asumiendo que la PFS a 3 años de referencia es de 70%, con un margen de

no inferioridad de 7% entre las ramas.

De esta manera, se aleatorizaron 790 pacientes elegibles (394 en la rama estándar y 396 en la rama experimental). Los grupos fueron balanceados en función de sus características y tasas de respuesta. Al final de la inducción el 88% fue PET negativo y 91% presentaba MRD negativa. Luego de un tiempo medio de seguimiento de 37 meses (rango 1-71 meses), la PFS y OS a 3 años fue de 96% y 76%, respectivamente (Figura 6).

El análisis interino planeado en el momento de la ocurrencia del 70% de los eventos fue anticipado cuando ocurrieron el 50% de los mismos. Los datos fueron enviados a un comité externo para monitoreo

En el gráfico siguiente se detalla el diseño del ensayo (gentileza del Dr. Federico):



de la seguridad. El análisis mostró que la rama experimental en la cual se optó por un mantenimiento adaptado a la respuesta (Arm B), fue significativamente inferior a la rama A que siguió el tratamiento de mantenimiento estándar luego de la inducción con R-quimioterapia (PFS estimada a 3 años 68 vs 84%, HR para PFS 2.05 [IC95% 1.5-2.81; $p < 0.0001$]). El comité consideró improbable que un mayor seguimiento pueda modificar estos resultados y aprobó la publicación de estos datos.

Conclusiones

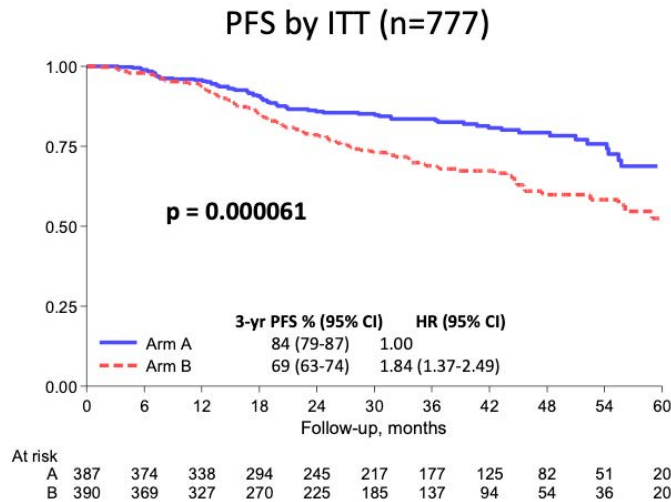
En base al cuerpo de evidencia actual, los pacientes con LF que tienen indicación terapéutica, se benefician del tratamiento de inducción con inmuno-quimioterapia, seguido de mantenimiento con R por 2 años, independientemente de haber alcanzado o no una respuesta metabólica completa. El mantenimiento con R ha demostrado beneficio significativo en la PFS, HT, TNT y OS; es un tratamiento que no presenta impacto negativo en la calidad de vida de los pacientes, presenta el beneficio de su aplicación subcutánea y es costo-efectivo.

Conflictos de interés: La autora declara haber recibido honorarios por parte de Roche, Takeda, Janssen y Novartis por concepto de conferencias y actividades educativas en las que ha participado.

Bibliografía

1. Link BK, Maurer MJ, Nowakowski GS et al. Rates and outcomes of follicular lymphoma transformation in the immunochemotherapy era: a report from the University of Iowa/MayoClinic Specialized Program of Research Excellence Molecular Epidemiology Resource. *J Clin Oncol.* 2013;31:3272-8.
2. Madsen C, Clausen MR, Plesner TL et al. Up-front rituximab maintenance improves outcome in patients with follicular lymphoma: a collaborative Nordic study. *Blood Adv.* 2018;2:1562-71.
3. Montoto S, Davies AJ, Matthews J et al. Risk and clinical implications of transformation of follicular lymphoma to diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol.* 2007;25:2426-33.
4. Guirguis HR, Cheung MC, Piliotis E et al. Survival of patients with transformed lymphoma in the rituximab era. *Ann Hematol.* 2014;93:1007-14.
5. Ban-Hoefen M, Vanderplas A, Crosby-Thompson AL et al. Transformed non-Hodgkin lymphoma in the rituximab era: analysis of the NCCN outcomes database. *Br J Haematol.* 2013;163:487-95.
6. Alonso-Alvarez S, Magnano L, Alcoceba M et al. Risk of, and survival following, histological transformation in follicular lymphoma in the rituximab era. A retrospective multicentre study by the Spanish GEL-TAMO group. *Br J Haematol.* 2017;178:699-708.
7. Hiddemann W, Kneba M, Dreyling M et al. Front-

Figura 6. Supervivencia libre de progresión (PFS) a 3 años en la rama estándar (Arm A) y experimental (Arm B) por intención de tratar (ITT). Gentileza Dr. Federico⁽²⁵⁾



line therapy with rituximab added to the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (CHOP) significantly improves the outcome for patients with advanced-stage follicular lymphoma compared with therapy with CHOP alone: results of a prospective randomized study of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. *Blood*. 2005;106:3725-32.

8. Marcus R, Imrie K, Solal-Celigny P et al. Phase III study of R-CVP compared with cyclophosphamide, vincristine, and prednisone alone in patients with previously untreated advanced follicular lymphoma. *J Clin Oncol*. 2008;26:4579-86.
9. Rummel MJ, Niederle N, Maschmeyer G et al. Bendamustine plus rituximab versus CHOP plus rituximab as first-line treatment for patients with indolent and mantle-cell lymphomas: an open-label, multicentre, randomised, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet*. 2013;381:1203-10.
10. Ghielmini M, Schmitz SF, Cogliatti SB et al. Prolonged treatment with rituximab in patients with follicular lymphoma significantly increases event-free survival and response duration compared with the standard weekly x 4 schedule. *Blood*. 2004;103:4416-23.
11. Taverna C, Martinelli G, Hitz F et al. Rituximab Maintenance for a Maximum of 5 Years After Single-Agent Rituximab Induction in Follicular Lymphoma: Results of the Randomized Controlled Phase III Trial SAKK 35/03. *J Clin Oncol*. 2016;34:495-500.
12. Salles G, Seymour JF, Offner F et al. Rituximab main-

tenance for 2 years in patients with high tumour burden follicular lymphoma responding to rituximab plus chemotherapy (PRIMA): a phase 3, randomised controlled trial. *Lancet*. 2011;377:42-51.

13. van Oers MH, Van Glabbeke M, Giurgea L et al. Rituximab maintenance treatment of relapsed/resistant follicular non-Hodgkin's lymphoma: long-term outcome of the EORTC 20981 phase III randomized intergroup study. *J Clin Oncol*. 2010;28:2853-8.
14. Cheah CY, Chihara D, Ahmed M et al. Factors influencing outcome in advanced stage, low-grade follicular lymphoma treated at MD Anderson Cancer Center in the rituximab era. *Ann Oncol*. 2016;27:895-901.
15. Janikova A, Bortlicek Z, Campr V et al. Impact of rituximab maintenance and maintenance schedule on prognosis in first-line treatment of follicular lymphoma. Retrospective analysis from Czech Lymphoma Study Group (CLSG) database. *Leuk Lymphoma*. 2016;57:1094-103.
16. Nastoupil LJ, Sinha R, Byrtek M et al. The use and effectiveness of rituximab maintenance in patients with follicular lymphoma diagnosed between 2004 and 2007 in the United States. *Cancer*. 2014;120:1830-7.
17. Barta SK, Li H, Hochster HS et al. Randomized phase 3 study in low-grade lymphoma comparing maintenance anti-CD20 antibody with observation after induction therapy: A trial of the ECOG-ACRIN Cancer Research Group (E1496). *Cance*. 2016;122:2996-3004.
18. Zhang L, Ghielmini M, Cheson BD, Ujjani C. Pros

- and cons of rituximab maintenance in follicular lymphoma. *Cancer Treat Rev.* 2017;58:34-40.
19. Zhou X, Wang J, Zhang J et al. Symptoms and toxicity of rituximab maintenance relative to observation following immunochemotherapy in patients with follicular lymphoma. *Hematology.* 2015;20:129-36.
 20. Witzens-Harig M, Foa R, Di Rocco A et al. Maintenance with rituximab is safe and not associated with severe or uncommon infections in patients with follicular lymphoma: results from the phase IIb MAXIMA study. *Ann Hematol.* 2014;93:1717-24.
 21. Hornberger J, Chien R, Friedmann M et al. Cost-effectiveness of rituximab as maintenance therapy in patients with follicular non-Hodgkin lymphoma after responding to first-line rituximab plus chemotherapy. *Leuk Lymphoma.* 2012;53:2371-7.
 22. Rule S, Briones J, Smith R et al. Preference for Rituximab Subcutaneous (Sc) and Intravenous (Iv) Among Patients With Cd20+ Non-Hodgkin's Lymphoma (Nhl) Completing the Rasq Measure In Randomized Phase Iii Studies Prefmab and Mabcute. *Value Health.* 2014;17:A537.
 23. Vitolo U, Ladetto M, Boccomini C et al. Rituximab maintenance compared with observation after brief first-line R-FND chemoimmunotherapy with rituximab consolidation in patients age older than 60 years with advanced follicular lymphoma: a phase III randomized study by the Fondazione Italiana Linfomi. *J Clin Oncol.* 2013;31:3351-9.
 24. Vidal L, Gaftor-Gvili A, Salles G et al. Rituximab maintenance improves overall survival of patients with follicular lymphoma-Individual patient data meta-analysis. *Eur J Cancer.* 2017;76:216-25.
 25. Federico M, Mannina D, Versari S et al. Response oriented maintenance therapy in advanced Follicular Lymphoma. Results of te interim analysis of the FOLL12 trial conducted by the Fondazione Italiana Linfomi. Abs#104, 15-ICML, Lugano, Suiza. Abstract book p.153-154.



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.

Rol del mantenimiento en linfoma folicular

Role of maintenance in follicular lymphoma

Giuliani F, Pavlovsky MA

Servicio de Hematología. Fundaleu. Buenos Aires. Argentina.

dr.giuliani.franco@gmail.com



CONTROVERSIAS EN LINFOMAS INDOLENTES

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 278-282
Octubre 2019

Palabras claves: linfoma,
folicular,
mantenimiento.

Keywords: lymphoma,
follicular,
maintenance.

Introducción

El linfoma folicular (LF) es el segundo linfoma no Hodgkin más frecuente después del linfoma difuso de células grandes B (representando el 20-30% del total) y el linfoma no Hodgkin indolente más común en el hemisferio occidental. Su célula de origen deriva del centro germinal y su firma genética consiste en la translocación $t(14;18)^{(1-3)}$.

La OMS lo clasifica en grados 1, 2, 3A y 3B, según la cantidad y disposición de los centroblastos, interpretándose y tratándose éste último como un linfoma agresivo⁽⁴⁾.

El LF se caracteriza por presentar un curso clínico crónico e indolente y por encontrarse, en la mayoría de los casos, en estadios avanzados al momento del diagnóstico (sólo un 1/3 presenta estadios I-II). Aunque actualmente se lo considera una patología incurable con los tratamientos disponibles, con recaídas frecuentes y en ocasiones, transformación a

una histología agresiva, los avances en el manejo y la mejor comprensión de su biología han mejorado sus respuestas y resultados clínicos^(2,3).

La introducción del rituximab (anticuerpo anti-CD20) en combinación con quimioterapia (QMT), ha mejorado el pronóstico de los pacientes con LF, aumentando la tasa de respuesta (TR), la sobrevida libre de progresión (SLP) y más significativamente, la sobrevida global (SG). Durante la última década, la adición de un tratamiento de mantenimiento (MT), definido como el uso de un anti-CD20 de forma continua una vez finalizada la terapia de inducción, ha sido probado con la esperanza de mejorar aún más los resultados en estos pacientes^(3,5).

Los regímenes de quimioinmunoterapia iniciales más utilizados en la actualidad consisten en combinaciones de rituximab con: ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona (R-CHOP); ciclofosfamida, vincristina y prednisona (R-CVP) o

bendamustina (R-Benda)⁽³⁾.

Como la mayoría de los pacientes con LF recaen, la intención del MT es aportar un beneficio significativo en cuanto a tasas de respuestas globales, SLP y SG, asociado a una buena tolerancia, efectos secundarios mínimos y a una cómoda posología.

Beneficios de la terapia de mantenimiento

Múltiples estudios prospectivos y retrospectivos han mostrado beneficio, en términos de SLP, con la terapia de mantenimiento con rituximab en comparación con la conducta expectante luego de un esquema de primera línea con QMT. El primer ensayo clínico aleatorizado que demostró un beneficio con la terapia de mantenimiento después de una primera línea de quimioinmunoterapia fue el estudio PRIMA, el mismo fue un estudio prospectivo, aleatorizado, fase III, con pacientes con LF que fueron asignados a recibir tratamiento con quimioinmunoterapia seguido por mantenimiento con rituximab vs observación, los esquemas de inducción fueron: R-FCM, R-CVP o R-CHOP. Los pacientes que lograron RP/RC fueron luego aleatorizados a someterse a observación o mantenimiento con rituximab cada 8 semanas durante 2 años. En el reporte inicial, con una mediana de seguimiento de 36 meses, la SLP para pacientes en observación fue del 57,6% vs 74,9% a favor de la terapia de mantenimiento sin diferencias en SG⁽⁶⁾. En la reciente actualización del estudio PRIMA, luego de 9 años de seguimiento (JCO 2019), la mediana de SLP fue de 10.5 años en la rama de rituximab vs 4.1 años en la rama observacional con una SLP a 10 años del 51% vs 35% respectivamente. Al momento del reporte 212 (42%) de 505 pacientes en la rama de MT vs 284 (55.4%) de 513 pacientes en la rama de observa-

ción requirieron un nuevo tratamiento anti-linfoma o fallecieron. Esta última actualización, sin embargo, no logró demostrar que el beneficio en SLP se trasladase en SG⁽⁷⁾. Otro estudio como el “*Eastern Cooperative Oncology Group. ECOG. 1496*” también mostró mejoría en términos de SLP a favor del mantenimiento con rituximab cuando se lo comparó con la rama observacional (4,8 vs 1.3 años)⁽⁸⁾. Dicha estrategia también es útil en pacientes recaídos/refractarios como lo demuestra el estudio EORTC 20891, con SLP de 4,4 vs 1,9 años a favor de la rama de rituximab⁽⁹⁾.

La terapia de mantenimiento en pacientes que recibieron como esquema inicial R-Benda, se basa en una serie de estudios retrospectivos que han sugerido también su beneficio en términos de SLP⁽¹⁰⁻¹²⁾. El estudio de Hill et al, evaluó el beneficio del mantenimiento luego del uso de R-Benda, analizando en forma retrospectiva 640 pacientes los cuales recibieron MT post inducción vs observación, evidenciándose un beneficio en SLP a 3 años del 84.2% vs 61.2% respectivamente (Tabla1).

La incidencia anual de transformación histológica en pacientes con LF es del 3% aproximadamente⁽¹³⁾. No es claro el beneficio del mantenimiento con rituximab en la reducción del mismo, reportándose en algunos estudios una probable disminución de la misma^(14,15). En las décadas pasadas se intentó realizar mantenimiento durante un período de 12 a 24 meses usando agentes citotóxicos como el clorambucilo, ciclofosfamida o interferón-alfa, sin lograr beneficios en términos de SG y ocasionando mayor toxicidad para el paciente. El uso de rituximab posee la ventaja de presentar un perfil de toxicidad bajo, asociado a una vida media prolongada^(16,17). El esquema más utilizado consiste en la aplicación de rituximab cada 2

Tabla 1. Estudios en LF que comparan MT vs observación post inducción con CIT

Estudio/ referencia	Diseño (# pacientes)	Inducción	Comparación	Resultado	Supervivencia global
Salles y colab ⁽⁶⁾ Bachy y colab ⁽⁷⁾	PIII (1018) prospectivo (PRIMA)	R C V P -RCHOP - RFCM	Rituximab cada 2 meses vs ob- servación	SLP a 10 años 51.1% vs 35%	80% en ambas ramas a 10 años
Hill y colab ⁽²⁸⁾	retrospectivo	BR	Rituximab MT vs observación	SLP a 3 años 84.2% vs 61.2%	Sin diferencia significativa
Madsen y colab ⁽²⁹⁾	retrospectivo	R C V P -RCHOP - BR	Rituximab MT vs observación	SLP a 5 años 84.2% vs 61.2%	89% vs 81%

o 3 meses por 2 años, pudiendo ser el primero más tóxico y sin aumento de eficacia. En cuanto a la duración, el ensayo SAKK 35/03 demostró que una administración a largo plazo (hasta 5 años) no mejoró la SLP y sí aumentó la toxicidad relacionada al tratamiento^(18,19).

Una de las preocupaciones de la terapia de mantenimiento es el costo que ésta implica, aunque diversos estudios demostraron que se compensa el mismo, con ganancias en calidad y años de vida^(20,21).

Como alternativa a la infusión vía endovenosa (EV), la posología subcutánea (SC) del rituximab ofrece una mejor calidad de vida, asociada a una mayor adherencia al mantenimiento, debido a que por vía EV, se requiere un tiempo de infusión de 1.5 a 3 hs aproximadamente, debiendo recibir monitoreo continuo durante el mismo, si la formulación es SC, el tiempo requerido decrece a 5 a 6 min, con la consiguiente optimización de tiempos y reducción de costos. El uso de la vía SC es posible debido al aumento de la concentración de rituximab (dosis fija de 1400 mg) y debido a la adición de la enzima hialuronidasa humana recombinante. La farmacocinética, seguridad y eficacia de la forma SC vs EV ha sido demostrada en distintos estudios, no encontrándose diferencias entre ambas⁽²²⁻²⁴⁾.

Si bien el anti CD-20 más usado actualmente como MT es el rituximab, éste no fue el único evaluado. En el estudio (GALLIUM) se llevó a cabo la comparación entre obinutuzumab (un anti CD-20 de 3ª generación, con un epítipo tipo II) vs rituximab, como mantenimiento. En pacientes con LF en estadios avanzados, mostró un beneficio en SLP a 3 años (80% vs 73.3%) a favor de obinutuzumab, no encontrándose diferencias en términos de SG. Los eventos adversos grado 3-5 fueron más frecuentes en la rama de obinutuzumab (74,6% vs 67,8%), aunque la tasa de eventos adversos que llevaron a la muerte de los pacientes fue similar en ambos grupos (4% con obinutuzumab vs 3.4% con rituximab). Dentro de los esquemas usados en inducción (CVP, CHOP y Benda), éste último se asoció con tasas más altas de infecciones grado 3-5, así como también con segundas neoplasias y mayor mortalidad, mientras que el esquema CHOP se asoció con mayores tasas grado 3-5 de neutropenia durante la fase de inducción⁽²⁵⁾.

Contras de la terapia de mantenimiento

Si bien se ha podido observar una mejoría en SLP, el mantenimiento con rituximab no ha demostrado un aumento en términos de SG⁽⁵⁾. En el estudio PRIMA, la SG a 3 años fue del 97% en el grupo de mantenimiento vs 94% en el grupo control, resultados que se mantienen en la última actualización del año 2019 (SG a 10 años: 80% en ambos grupos)^{6,7}. La terapia de MT tampoco ha logrado impactar en la SG de pacientes con LF recaídos, sometidos a trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas⁽²⁶⁾.

Se ha sugerido la posibilidad de que el mantenimiento con rituximab disminuya la posibilidad de transformación a una histología más agresiva, como se menciona en algunos estudios^(14,15), sin embargo, éstos han sido trabajos retrospectivos u observacionales. Los ensayos prospectivos aleatorizados no han logrado demostrar tal efecto.

Si bien la terapia con rituximab es bien tolerada, la misma no está exenta de riesgos, ya que se sabe que aumenta la incidencia de mielosupresión, infecciones y reacciones infusionales, siendo mayor el riesgo mientras más frecuente sea la administración de la medicación⁽²⁷⁾. Otras complicaciones menos frecuentes pero graves son reactivación de hepatitis B, leucoencefalopatía multifocal progresiva, neutropenia tardía y prolongada e hipogammaglobulinemia. En el estudio PRIMA, las infecciones grado 2-3 fueron el evento adverso más común, observándose en el 39% de los pacientes con rituximab vs 24% en la rama observacional. En la actualización del PRIMA a 9 años, el MT estuvo asociado a mayores eventos grado 3/4 (24.4% vs 16.9%), eventos adversos serios (21.2% vs 13.4%) y eventos grado 5 (fatales) (1,6% vs 0,6% respectivamente)⁽⁵⁻⁷⁾.

Los regímenes de inducción basados en bendamustina, seguidos de terapia de mantenimiento con rituximab, están asociados a mayor toxicidad y mayor número de infecciones graves, debido a una mayor inmunosupresión, principalmente por linfodeplección a nivel de células T asociado a hipogammaglobulinemia⁽²⁷⁾.

Es bien conocido que pacientes que logran respuestas profundas con la QMT inicial, principalmente aquéllos con respuestas completas, presentan un mejor pronóstico, con mayor tiempo en remisión,

aun sin mantenimiento⁽²⁷⁾. Un estudio analizó el beneficio del mantenimiento con rituximab comparado con observación en 640 pacientes con LF luego de una inducción con esquema R-benda, el mismo mostró beneficio sólo en aquellos pacientes que lograron una respuesta parcial (duración de respuesta a 3 años: 80% vs 45%), mientras que en los que obtuvieron una respuesta completa no presentaron diferencias (duración de respuesta a 3 años: 85.9% vs. 80.2%)⁽²⁸⁾. Estos datos sugieren que se debería considerar la respuesta obtenida luego de la inducción antes de decidir un mantenimiento con rituximab, pudiendo de esta manera reservar la misma para pacientes candidatos a lograr un mayor beneficio, ahorrando el costo económico y las molestias de una terapia prolongada.

Si bien se mencionó previamente que la terapia de mantenimiento con rituximab era una intervención costo-efectiva, se debe considerar la posibilidad de eventos adversos relacionados a la misma, los cuales pueden requerir internación, antibióticos EV, uso de estimulantes de colonias granulocíticas, entre otros, siendo éste un costo no considerado en la mayoría de los trabajos. También se debe tener en cuenta a la hora de prescribir una terapia de mantenimiento la

preferencia del paciente, comorbilidades y acceso a estas terapias costosas⁽⁵⁾.

Conclusiones

Se sabe que el uso de rituximab es efectivo en pacientes con LF, usado durante el tratamiento de inducción, sin embargo su uso como terapia de mantenimiento sigue siendo controversial. Gracias a diversos trabajos, se sabe que la misma aumenta la SLP, sin embargo, puede estar asociada a posibles eventos adversos, en ocasiones a un gran costo, sin reflejarse beneficios en términos de SG ni en disminución de transformación histológica agresiva.

Es imprescindible a la hora de decidir mantenimiento, tener en cuenta el concepto de terapia a medida para cada paciente, debiendo la misma, ser individualizada para cada paciente en particular, considerando el esquema de inducción utilizado, la respuesta obtenida luego del mismo, las comorbilidades del paciente, entre otras variables.

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

Bibliografía

1. Basso K, Dalla-Favera R y col. Germinal centers and B cell lymphomagenesis. *Nat Rev Immunol*. 2015; 15(3):172-184.
2. Kahl BS, Yang DT. Follicular lymphoma: evolving therapeutic strategies. *Blood*. 2016 127: 2055-2063.
3. Madsen C, Clausen MR, Plesner TL y col. Up-front rituximab maintenance improves outcome in patients with follicular lymphoma: a collaborative Nordic study. *Blood Adv*. 2018 Jul 10;2(13):1562-1571.
4. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL y col. WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 2017; 270-271.
5. Lu Zhang, Michele Ghielmini, Bruce D. Cheson, Chaitra Ujjani. Pros and cons of rituximab maintenance in follicular lymphoma. *Cancer Treat Rev*. 2017 Jul;58:34-40.
6. Salles G, Seymour JF, Offner F y col. Rituximab maintenance for 2 years in patients with high tumour burden follicular lymphoma responding to rituximab plus chemotherapy (PRIMA): a phase 3, randomised controlled trial. *Lancet*. 2011;377(9759):42-51.
7. Bachy E, Seymour JF, Feugier P y col. Sustained Progression-Free Survival Benefit of Rituximab Maintenance in Patients With Follicular Lymphoma: Long-Term Results of the PRIMA Study. *J Clin Oncol*. 2019 Jul 24;JCO1901073.
8. Barta SK, Li H, Hochster HS y col. Randomized phase 3 study in low-grade lymphoma comparing maintenance anti-CD20 antibody with observation after induction therapy: a trial of the ECOG-ACRIN Cancer Research Group (E1496). *Cancer*. 2016;122(19):2996-3004.
9. Van Oers MH, Van Glabbeke M, Giurgea L y col. Rituximab maintenance treatment of relapsed/resistant follicular non-Hodgkin's lymphoma: longterm outcome of the EORTC 20981 phase III randomized intergroup study. *J Clin Oncol*. 2010 Jun 10;28(17):2853-8.
10. Bech RS, Nielsen KL, Larsen TS y col. Real world data

- on rituximab maintenance therapy after frontline immunochemotherapy in grade 1-3a follicular lymphoma. *Br J Haematol.* 2018;182:297-301.
11. Madsen C, Clausen MR, Plesner TL y col. Up-front rituximab maintenance improves outcome in patients with follicular lymphoma: a collaborative Nordic study. *Blood Adv.* 2018;2:1562-1571.
 12. Hill BT, Nastoupil L, Winter AM y col. Maintenance rituximab or observation after frontline treatment with bendamustine-rituximab for follicular lymphoma. *Br J Haematol.* 2019;184:524-535.
 13. Bastion Y, Sebban C, Berger F y col. Incidence, predictive factors, and outcome of lymphoma transformation in follicular lymphoma patients. *J Clin Oncol.* 1997 Apr;15(4):1587-94.
 14. Al-Tourah AJ, Sehn LH, Moccia AA, Gascoyne RD, Connors JM. Transformation of follicular lymphoma in the era of immunochemotherapy: a population based study from British Columbia. Presented at: ASCO Annual Meeting Proceedings; 2012.
 15. Wagner-Johnston ND, Link BK, Byrtek M y col. Outcomes of transformed follicular lymphoma in the modern era: a report from the National LymphoCare Study (NLCS). *Blood.* 2015;126(7):851-7.
 16. Steward WP, Crowther D, McWilliam LJ y col. Maintenance chlorambucil after CVP in the management of advanced stage, low-grade histologic type non-Hodgkin's lymphoma. A randomized prospective study with an assessment of prognostic factors. *Cancer.* 1988;61(3):441-7.
 17. Rohatiner AZ, Gregory WM, Peterson B y col. Meta-analysis to evaluate the role of interferon in follicular lymphoma. *J Clin Oncol.* 2005;23(10):2215-23.
 18. Rashidi A, Oak E, Bartlett NL. Maintenance rituximab every 2 months is more toxic than every 3 months in patients with non-Hodgkin lymphoma. *Blood.* 2015;125(21):3354-5.
 19. Taverna C, Martinelli G, Hitz F y col. Rituximab Maintenance for a Maximum of 5 Years After Single-Agent Rituximab Induction in Follicular Lymphoma: Results of the Randomized Controlled Phase III Trial SAKK 35/03. *J Clin Oncol.* 2016 Feb 10;34(5):495-500.
 20. Hornberger J, Chien R, Friedmann M y col. Cost-effectiveness of rituximab as maintenance therapy in patients with follicular non-Hodgkin lymphoma after responding to first-line rituximab plus chemotherapy. *Leukemia lymphoma.* 2012;53(12):2371-7.
 21. Kasteng F, Erlanson M, Hagberg H, Kimby E, Relander T, Lundkvist J. Cost-effectiveness of maintenance rituximab treatment after second line therapy in patients with follicular lymphoma in Sweden. *Acta Oncol.* 2008;47(6):1029-36.
 22. Salar A, Avivi I, Bittner B y col. Comparison of subcutaneous versus intravenous administration of rituximab as maintenance treatment for follicular lymphoma: results from a two-stage, phase IB study. *J Clin Oncol.* 2014;32(17):1782-91.
 23. De Cock E, Kritikou P, Sandoval M y col. Time savings with rituximab subcutaneous injection versus rituximab intravenous infusion: a time and motion study in eight countries. *PLoS One.* 2016;11(6):e0157957.
 24. Rule S, Collins GP, Samanta K. Subcutaneous vs intravenous rituximab in patients with non-Hodgkin lymphoma: a time and motion study in the United Kingdom. *J Med Econ.* 2014;17(7):459-68.
 25. Marcus R, Davies A, Ando K y col. Obinutuzumab for the first-line treatment of follicular lymphoma. *N Engl J Med.* 2017;377(14):1331-1344.
 26. Pettengell R, Schmitz N, Gisselbrecht C y col. Rituximab purging and/or maintenance in patients undergoing autologous transplantation for relapsed follicular lymphoma: a prospective randomized trial from the lymphoma working party of the European group for blood and marrow transplantation. *J Clin Oncol.* 2013;31(13):1624-30.
 27. Roschewski M, Hill BT. One Size Does Not Fit All: Who Benefits From Maintenance After Frontline Therapy for Follicular Lymphoma? *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2019 Jan;39:467-476.
 28. Hill BT, Nastoupil L, Winter AM y col. Maintenance rituximab or observation after frontline treatment with bendamustine-rituximab for follicular lymphoma. *Br J Haematol.* 2019;184:524-535.
 29. Madsen C, Clausen MR, Plesner TL et al. Up-front rituximab maintenance improves outcome in patients with follicular lymphoma: a collaborative Nordic study. *Blood Adv.* 2018;2:1562-1571.



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 linfocítica crónica en pacientes jóvenes: análisis de sus características clínicas, factores pronóstico y evolución.

Chronic lymphocytic leukemia in young patients:
analysis of its clinical characteristics,
prognostic factors and evolution.

Dres. Fernández GH¹, Pavlovsky A², Enrico A³, Bezares R⁴,
Cugliari M⁵, Crip R⁶, Gonzalez J⁷, de Goycochea D⁸,
Kornbliht L⁹, Arbelbide J¹⁰, Ferini G¹⁰, Slavutsky I¹¹, Kruss
M¹, Dupont J¹², Lafalce D¹³, Villegas DC¹⁴, Barberis M⁴,
Heller V¹⁵, Noya L¹⁶, Riveros D¹², Tosin MF¹⁷, Campos C¹⁸,
Hendler H¹⁹, Robin M²⁰, Fischman L⁷, Bendek G¹⁰,
Custidiano R²², Pose J²⁰, Gamberale R¹¹, Giordano M¹¹, Mi-
roli A¹⁷, Guanchiale L²¹, Pavlovsky M², Cabrejo M¹
en representación de la Subcomisión de Leucemia
Linfocítica Crónica.

¹Sanatorio Dr. Julio Méndez, ²Centro de Hematología Pavlovsky,
³Hospital Italiano de la Plata, ⁴Hospital Álvarez Buenos Aires, ⁵Instituto de
Oncología Ángel Roffo, ⁶Hospital Nacional Posadas, ⁷Hospital Durand, ⁸Hospital
Privado C. Médico Córdoba, ⁹Hospital de Clínicas José de San Martín,
¹⁰Hospital Italiano de Buenos Aires, ¹¹Academia Nacional de Medicina,
¹²CEMIC, ¹³Hospital G de Agudos Dr. H. Tornú, ¹⁴Hospital Privado de Córdoba,
¹⁵Hospital Nacional de Clínicas de Córdoba, ¹⁶Hospital Churruca Visca,
¹⁷Hospital El Cruce, ¹⁸Hemocentro Santa Fe, ¹⁹Consultorio Privado de
Hematología, ²⁰Consultorio P Hematológico, ²¹Hospital Universitario
de Córdoba, ²²Instituto Alexander Fleming.

mariacabrejo@hotmail.com



ACTUALIZACIÓN
EN LEUCEMIA
LINFÁTICA CRÓNICA

HEMATOLOGÍA
Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 283-389
Octubre 2019

Palabras claves: LLC,
pacientes jóvenes.

Keywords: CLL,
young patients.

Introducción

La leucemia linfocítica crónica de linfocitos B (LLC-B) es la leucemia crónica más frecuente de Occidente y afecta a personas mayores: la mediana de edad al diagnóstico oscila entre 65 y 70 años. Se trata de la acumulación progresiva de linfocitos ma-

duros con un fenotipo característico CD5+, CD23+, CD20+ que compromete, sobre todo, médula ósea, sangre periférica y ganglios linfáticos. Con una incidencia anual de 4,7 nuevos casos por c/100.000 individuos por año en USA, se estima que ésta

podría ser menor en Latinoamérica, así como en los países asiáticos⁽¹⁾. A pesar de que el 67% de los pacientes son mayores de 65 años, los pacientes jóvenes, definidos de manera arbitraria como aquéllos menores de 55 años, representan entre el 7% y 20% de los pacientes afectados por LLC según datos de registros internacionales⁽²⁾. Un estudio realizado en la Clínica Mayo reportó que los pacientes con LLC jóvenes presentaban preferentemente marcadores de mal pronóstico en comparación con los pacientes LLC de más de 55 años y que, si bien la sobrevida global de los pacientes jóvenes era mayor que la de los pacientes adultos, la sobrevida global de todos los pacientes LLC era menor que la de la población sana de edad y sexo similar⁽³⁻⁴⁾.

El objetivo de este estudio fue describir y comparar las características clínicas, tiempo al primer tratamiento y sobrevida global de nuestros pacientes jóvenes ($\leq$ de 55 años) y pacientes mayores ($>$ de 55 años) con diagnóstico de LLC.

Material y método.

Todos los pacientes LLC incluidos en el estudio ($n=366$) fueron diagnosticados a partir de enero del 2008 hasta enero 2018. Los pacientes con diagnóstico de LLC y linfoma linfocítico de células pequeñas cumplían con los criterios diagnósticos según la clasificación WHO de 2016. Para describir las características clínicas, los pacientes fueron categorizados por la edad en pacientes jóvenes ($\leq$ de 55 años) y pacientes adultos ($>$ de 55 años). Se incluyeron 143 pacientes LLC jóvenes (39% del total de los pacientes), 81 de ellos reportados en el Registro Argentino de Enfermedades Hematológicas de la SAH (RAEH) y 62 pacientes jóvenes reportados por fuera del RAEH, provenientes de otras instituciones; además se incluyeron 223 pacientes LLC adultos (61% del total de los pacientes) reportados en el RAEH. Las características demográficas, estadio clínico y de laboratorio se obtuvieron al diagnóstico, mientras que los estudios de FISH, citogenética y estatus mutacional de IGHV se realizaron durante el curso de la enfermedad y previo al tratamiento. Se compararon las características clínicas, demanda terapéutica, tiempo al tratamiento y sobrevida de ambos grupos. Las alteraciones citogenéticas se dividieron en cariotipo normal, cariotipo anormal (1

o 2 alteraciones) y cariotipo complejo ($\geq$ 3 alteraciones).

Análisis estadístico: los datos fueron descriptos en número y porcentajes, media y mediana cuando fue apropiado. Para el análisis de sobrevida se utilizó el test de Kaplan-Meier.

Resultados

La mediana y media de edad en pacientes jóvenes con LLC incluidos en este trabajo fueron de 47 años y 51 años respectivamente. La distribución de los 143 pacientes jóvenes según la franja etaria fue de 3 n en aquéllos $\leq$ de 30 años, 22 n en aquéllos $\leq$ de 40 años, 20 n en $\leq$ 45 años, 55 n en $\leq$ de 50 años y 43 n en $\leq$ de 55 años.

La mediana de edad y la media de los pacientes con LLC adultos fueron de 67 años y 67,8 años en esta serie.

Con respecto al sexo, la distribución fue similar en ambos grupos, sin diferencia estadística ($p=0,59$), con predominio del sexo masculino en ambos grupos y una relación M/F de 1,6 y 1,4 respectivamente.

Tal como puede observarse en la Tabla 1, al comparar el estado funcional (PS) entre ambos grupos, hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas ($p=0,006$). Es así que, tal como esperábamos, los pacientes LLC jóvenes presentan un mejor PS que los adultos. No se encontraron diferencias en los antecedentes de enfermedad linfoproliferativa en familiares de 1er. grado entre ambos grupos. Hubo diferencia estadísticamente significativa ($p=0,009$) en relación al recuento de leucocitos y de linfocitos ($p=0,0011$), y de LDH por encima del valor normal ($p=0,098$). La hemoglobina y recuento de plaquetas en ambos grupos es similar. La información con respecto al estatus mutacional es escasa, ya que sólo estuvo disponible para el 21% en pacientes jóvenes y el 11% de los pacientes adultos. En esta población acotada no se encontraron diferencias en el estatus mutacional. Al comparar los estadios clínicos encontramos una mayor presencia RAI 0 y Binet A en el grupo de pacientes adultos. Los estudios citogenéticos de médula ósea pudieron realizarse en 132 pacientes de la población en estudio (69 pacientes jóvenes y 63 pacientes adultos). En la Tabla 2 se detallan los resultados en relación

Tabla 1. Características clínico- emográficas de ambos grupos.

	LLC ≤ 55 años. (n= 143)	LLC > 55 años. (n= 223)	Valor de P
Edad (mediana)	47 años	67,8 años	
Sexo (relación M/F)	1,6	1,4	
Estado funcional			0,006
0	124 (87%)	162 (73%)	
1	15 (11%)	52 (24%)	
2	3 (2%)	7 (3%)	
Antecedentes familiares de SLP			0,838 NS
No	136 (95%)	211 (96%)	
Sí	7 (5%)	12 (4%)	
Hemoglobina (g/dl)			0,47 NS
media	13,3	13,5	
mediana	13,1	13,3	
rango	(5,2 - 15,8)	(6,5 - 16,8)	
Leucocitos x 10⁹/L			0,0009
media	24000	18000	
mediana	43389	36068	
rango	(4000 - 240000)	(3380 - 407900)	
Linfocitos x 10⁹/L			0,0011
media	17252	12979	
mediana	34080	28801	
rango	(836 - 216000)	(1120 - 399742)	
Plaquetas			0,68 NS
media	196000	197000	
mediana	194000	190548	
rango	(16000 - 463000)	(2090 - 348000)	
LDH (mg/dl)			0,5 NS
media	316	336	
mediana	352	352	
rango	(120 - 767)	(120 - 1329)	
LDH normal	104 (75%)	183 (82%)	0,098
LDH aumentada	35 (25%)	40 (18%)	
β₂ microglobulina			
media	2,3 mg/dl	2 mg/dl	
mediana	3,2 mg/dl	4,3 mg/dl	
<2,5 mg/dl	74 (52%)	139 (62%)	0,045
> 2,5 mg/dl	69 (48%)	84 (38%)	
Estado mutacional IGVH			

n	27 (21%)	24 (11%)
mutados (n)	23	17
no mutados (n)	4	7
Estadío Binet		0,011
A	85 (60%)	163 (73%)
B	41 (28%)	36 (16%)
C	17 (12%)	24 (11%)
Estadío Rai		0,011
0	42 (29%)	99 (44%)
I	40 (28%)	60 (27%)
II	43 (30%)	37 (17%)
III	11 (7%)	13 (6%)
IV	7 (5%)	14 (6%)

Tabla 2. Cariotipo de pacientes LLC jóvenes y adultos

Alteraciones genéticas	Cariotipo normal. N: total n (%)	Cariotipo anormal N: total n (%)	Cariotipo complejo. N: total n (%)	Valor de p
≤ de 55 años	55/69 (80%)	5/69 (7%)	9/ 69 (13%)	0,226
> de 55 años	57/ 63 (90%)	2/63 (3%)	4/ 63 (7%)	

Las alteraciones genéticas estudiadas por FISH se muestran en la Tabla 3. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de pacientes jóvenes y adultos.

FISH categoría	≤ de 55 años N= 72 (49%)	> de 55 años N= 74 (34%)	Valor p P=0,006
13q12 negativo	67p/45 (67%)	56p/45 (80%)	
13q12 positivo	67p/22 (33%)	56p/11 (20%)	0,100
Trisomía 12 negativo	65p/54 (83%)	61p/52 (85%)	
Trisomía 12 positivo	65p/11 (17%)	61p/9 (15%)	0,739
Del 11q22 negativo	48p/46 (96%)	16/16 (100%)	
Del 11q22 positivo	48p/2 (4%)	16p/0	0.407
Del 17p 13 negativo	72p/58 (80%)	74p60 (81%)	
Del 17p 13 positivo	72p/14 (20%)	74p/14 (19%)	0,936

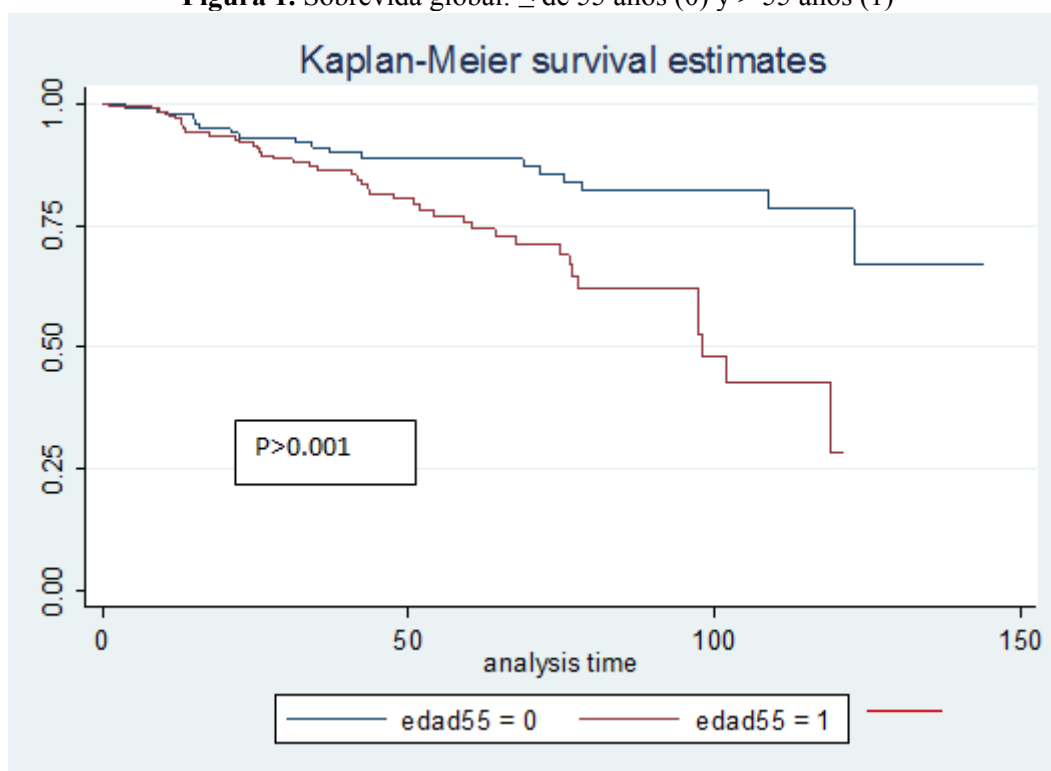
al cariotipo observado, que no mostró diferencias significativas entre ambos grupos.

Al evaluar a la totalidad de los 366 pacientes, encontramos que, luego de una mediana de seguimiento de 45,8 meses (rango 0-144 m), 99 pacientes requirieron tratamiento. Para este grupo la mediana de tiempo al primer tratamiento es de 22 meses y una sobrevida global de 62 meses.

Al segregarlos en grupos encontramos que 47 de los 143 pacientes jóvenes recibieron tratamiento (33%), mientras que 52 de los 223 pacientes adultos requirieron ser tratados (23%). Si bien la demanda de

tratamiento fue mayor en los pacientes jóvenes, las diferencias no fueron estadísticamente significativas (p=0,045). Por el contrario, y en concordancia con reportes previos⁽³⁾, encontramos diferencias significativas al estudiar el tiempo promedio al primer tratamiento, que fue más corto en los pacientes jóvenes: 5,3 meses vs 23 meses, jóvenes vs adultos (p=0,001). La opción terapéutica más utilizada fue la inmunoterapia en más del 70% de los casos en ambos grupos. Si bien la sobrevida global media no fue alcanzada para los pacientes jóvenes y fue de 96 meses para los adultos (p=0,0001, Figura 1).

Figura 1. Sobrevida global: $\leq$ de 55 años (0) y $>$ 55 años (1)



Cuando comparamos la sobrevida global de los pacientes jóvenes tratados versus jóvenes no tratados (Figura 2) y de los pacientes adultos tratados versus adultos no tratados (Figura 3), en ambos casos encontramos que los pacientes tratados presentaron una sobrevida global menor que los pacientes no tratados ($p < 0,001$). Tal como puede verse en la Figura 4, la probabilidad de sobrevida de los pacientes no tratados es igualmente alta para ambos grupos de pacientes.

Dieciocho (12,5%) de los pacientes jóvenes y 44 (20%) de los pacientes adultos murieron durante el seguimiento ($p=0,000$). En el análisis multivariado la edad y el tratamiento fueron las únicas variables con impacto en la sobrevida global.

Conclusión

La información de las características clínicas dispo-

nibles de los pacientes LLC jóvenes es escasa en la literatura. En este estudio encontramos algunas diferencias significativas: los jóvenes se presentan con un estadio más avanzado, con mayor carga tumoral e intervención terapéutica más temprana que los pacientes adultos. No hay diferencias en los marcadores pronósticos tradicionales entre ambos grupos, ni en las características de laboratorio. La mayor proporción de estadios más tempranos en los pacientes mayores $\geq$ de 55 años podría explicarse por el diagnóstico precoz de la LLC, debido a exámenes de rutina de laboratorio más frecuentes. La edad y el tratamiento fueron las variables que tuvieron impacto en la sobrevida global en ambos grupos. El hecho de ser retrospectivo, con datos de marcadores biológicos y moleculares insuficientes y un número bajo de pacientes son algunas de las limitaciones de este estudio que no nos permite sacar conclusiones firmes.

Figura 2. Sobrevida global de pacientes jóvenes tratados y no tratados

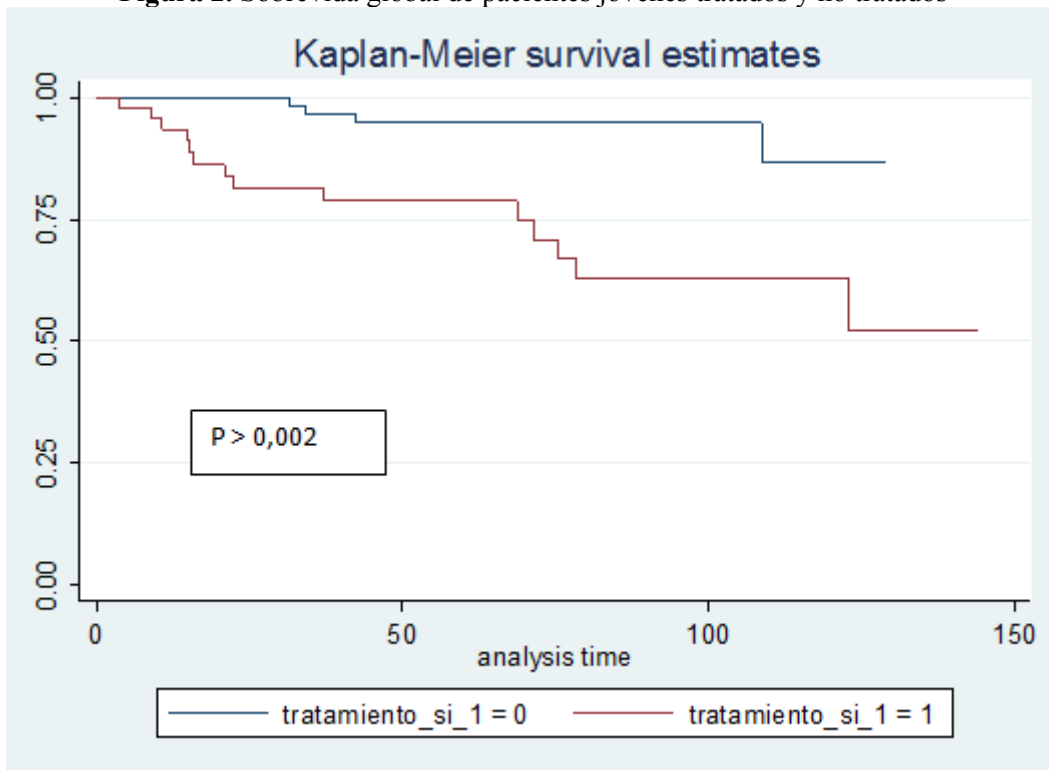


Figura 3. Sobrevida global de pacientes adultos tratados y no tratados

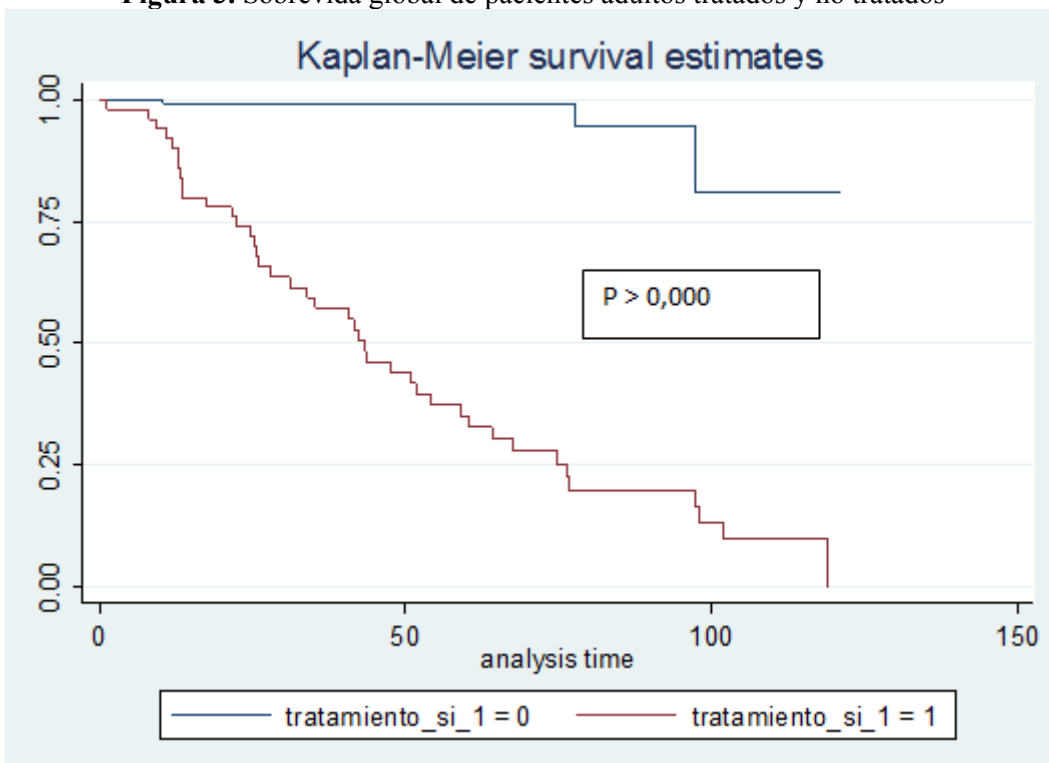
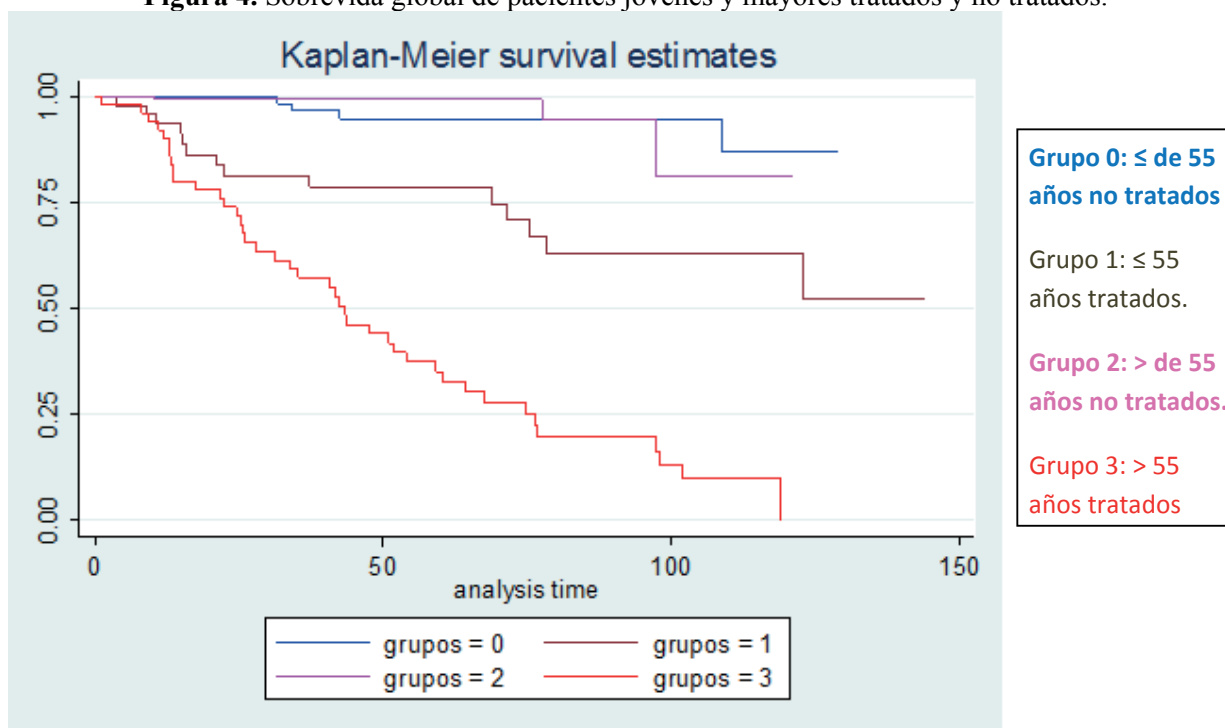


Figura 4. Sobrevida global de pacientes jóvenes y mayores tratados y no tratados.



Conflictos de interés: Los autores Cabrejo, Fernández Grecco, Lafalce y Noya declaran no poseer conflictos de interés. El resto de los autores no informa si poseen.

Bibliografía

1. Yang SM, Li JY, Gale RP, Huang XJ. The mystery of chronic lymphocytic leukemia (CLL): Why is it absent in Asians and what does this tell us about etiology, pathogenesis and biology? *Blood Rev.* 2015 May;29(3):205-13.
2. Eren R, Karişmaz A, Karataş D, Doğu MH, Altındal Ş, Yokuş O, Suyani E. Comparison of clinical features and survival between young and old chronic lymphocytic leukemia patients: a single center study from Turkey. *Leuk Lymphoma.* 2019 Mar;60(3):742-747.
3. Parikh SA, Rabe KG, Kay NE, Call TG, Ding W, Schwager SM, Bowen DA, Conte M, Jelinek DF, Slager SL, Shanafelt TD. Chronic lymphocytic leukemia in young (≤ 55 years) patients: a comprehensive analysis of prognostic factors and outcomes. *Haematologica.* 2014 Jan;99(1):140-7.
4. Shanafelt TD, Rabe KG, Kay NE, Zent CS, Jelinek DF, Reinalda MS, Schwager SM, Bowen DA, Slager SL, Hanson CA, Call TG. Age at diagnosis and the utility of prognostic testing in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer.* 2010 Oct 15;116(20):4777-87.



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.

Evaluación de mutaciones del gen *TP53* en leucemia linfocítica crónica

Analysis of *TP53* gene mutations in chronic lymphocytic leukemia

Stanganelli C¹, Cabrera J¹, Slavutsky I²

¹División Patología Molecular, Instituto de Investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, Argentina.

²Laboratorio de Genética de Neoplasias Linfoides, Instituto de Medicina Experimental, CONICET, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, Argentina.

medicinanuclear270@gmail.com



ACTUALIZACIÓN
EN LEUCEMIA
LINFÁTICA CRÓNICA

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 290-294
Octubre 2019

Palabras claves: *TP53*,
mutaciones,
LLC.

Keywords: *TP53*,
mutations,
CLL.

Introducción

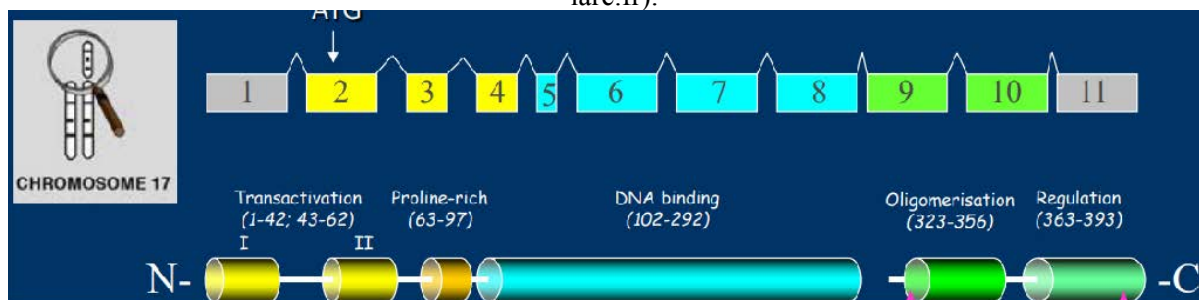
La leucemia linfocítica crónica (LLC) es la forma más común de leucemia en adultos en el mundo occidental, representando alrededor del 30% de todas las leucemias⁽¹⁾. Presenta un curso clínico muy variable asociado a la diversidad de alteraciones genéticas identificadas en esta patología⁽²⁾. Esto determina la necesidad de disponer de marcadores pronóstico y predictivos de sobrevida y respuesta al tratamiento, esenciales para el manejo de la enfermedad. Entre ellos encontramos las mutaciones del gen *TP53* (*tumor protein P53*) y/o las deleciones de 17p13 (del17p13), lugar donde mapea dicho gen.

El gen supresor tumoral *TP53* codifica un factor de transcripción que desempeña un papel central en el mantenimiento de la integridad del genoma y en la respuesta al estrés celular, regula la expresión de genes diana que participan en el control del ciclo celular, apoptosis, senescencia, reparación del ADN

y cambios en el metabolismo⁽³⁾. Dicho gen codifica una proteína de 393 aminoácidos (aa), comprende 11 exones, de los cuales el exón 1 es no-codificante, en el exón 2 existen dos sitios de inicio de la transcripción y el 11 contiene el codón de terminación y una gran secuencia no codificante. Aunque la mayoría de las mutaciones se agrupan dentro del dominio de unión al ADN (codones 100-300, exones 4-8), se han detectado mutaciones en casi todos los codones, determinando que la secuenciación deba cubrir el dominio de unión al ADN y el dominio de oligomerización (exones 4-10), aunque idealmente debería analizarse la secuencia codificante entera (exones 2-11) (Figura 1).

Alteraciones de *TP53*. Su efecto sobre la función y patogénesis

Los primeros estudios utilizando la técnica de FISH (*fluorescence in situ hybridization*) revelaron que

Figura 1. Organización del gen TP53 y distribución de mutaciones por exones. (Modificado de <http://p53.iarc.fr>).

los pacientes con LLC que presentan la del17p13 mostraban una sobrevida significativamente menor respecto de los casos que tenían otras anomalías citogenéticas recurrentes⁽²⁾, así como tiempos cortos a la progresión de la enfermedad y respuestas deficientes al tratamiento inmuno-quimioterápico⁽⁴⁻⁶⁾, constituyendo un fuerte marcador pronóstico y predictivo^(7,8). Al presente, los defectos de este gen, tanto las deleciones como las mutaciones de *TP53*, constituyen biomarcadores claves en la toma de decisiones terapéuticas en LLC^(9,10). Las mutaciones incluyen variantes con cambio de sentido (*missense*), inserciones o deleciones (*indels*), mutaciones sin sentido (*nonsense*) o mutaciones en el sitio de splicing. Aunque las transiciones son frecuentes, son raras en los sitios CpG. Las combinaciones de estos mecanismos determinan la pérdida de la función del gen *TP53* (Figura 2)^(11,12), siendo el más frecuente la del17p13 en un alelo asociada con mutación del alelo restante, presente en hasta 2/3 de los casos. Otros pacientes presentan sólo deleción (10%) o mutación en ausencia de deleción con una frecuencia que varía entre 20-30% en los distintos estudios, dependiendo de la cohorte estudiada y la metodología utilizada. La alta frecuencia de mutación sin deleción es debida a la presencia de mutaciones en ambos alelos, en algunos casos la mutación puede estar acompañada de una pérdida de heterocigocidad (LOH) del alelo restante, resultando en la duplicación del alelo mutado⁽⁸⁾. Estas anomalías ocurren en aproximadamente el 5%-15% de los casos de LLC al momento del diagnóstico o antes del tratamiento de primera línea y alrededor del 40% en casos refractarios al tratamiento con fludarabina^(3,4,8,13,14), siendo causa de inestabilidad genómica en la célula leucémica^(8,12,14,15).

Análisis de una cohorte de Argentina

En nuestro laboratorio efectuamos el análisis de la

presencia de mutaciones del gen *TP53* en una cohorte de pacientes con LLC, utilizando la técnica de Sanger acorde a lo previamente descripto⁽¹⁶⁾. Se estudiaron 42 pacientes (24 varones; edad media: 66,9 años, rango: 40-80 años; estadios clínicos RAI: 0: 25 %; I-II: 37,5%; III-IV: 37,5%).

Se encontraron 11/42 casos (26,2%) con *TP53* mutado (*TP53*-M) con la siguiente distribución: 1 en el exón 4 (7,7%), 1 en el intrón 5 (sitio de splicing, 7,7%), 1 en el exón 6 (7,7%), 2 en el exón 7 (15,4%), 3 en el exón 8 (23,0%) y 5 en el exón 5 (38,5%). Un paciente presentó tres mutaciones concomitantes. Se observaron 2 inserciones y 2 deleciones (30,8%), tres con cambio del marco de lectura (*frameshift*), y 9 mutaciones puntuales, 1 en el sitio de splicing (7,7%) y 8 con cambio de sentido (61,5%): 5 transiciones y 4 transversiones, una en el sitio CpG. (Figura 3). En la Tabla 1 se detallan las mutaciones del gen *TP53* encontradas en la cohorte argentina analizada. Acorde a lo descripto en la literatura⁽¹³⁾, las mutaciones de nuestra cohorte mostraron la distribución topológica característica del gen, con el 92,3% de las mismas ubicadas en el dominio de unión al ADN (exones 5-8; 66,7% cambio de sentido).

En 26 pacientes se efectuó el análisis de IGHV, no encontrándose correlación entre la presencia de mutaciones de *TP53* y el estado mutacional. Ocho de los 10 casos (80%) con *TP53*-M presentaron del17p13 por FISH; resulta importante remarcar que 2 pacientes (20%) mostraron ausencia de la deleción (1 de ellos tenía ambos alelos mutados y 3 mutaciones concomitantes). Todos los casos con *TP53*-M presentaron porcentajes de deleción por FISH superiores al 20%, con una media de 41,8%, significativamente mayor que la observada en pacientes con *TP53*-no mutados (NM) (10,4%)

Figura 2. Mecanismos que conducen a la pérdida de la función del gen TP53. Modificado de Campo et al, 2018 ⁽⁸⁾.

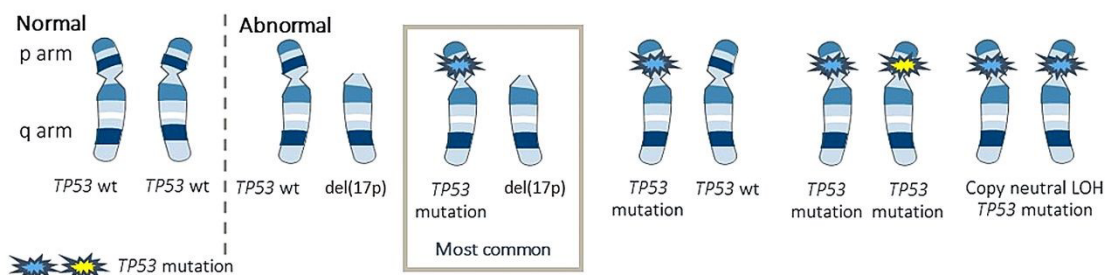


Figura 3. Distribución topológica de las mutaciones de TP53 considerando el subtipo molecular. Ex: Exón; In: Intrón; Splicing-S: Splicing-site

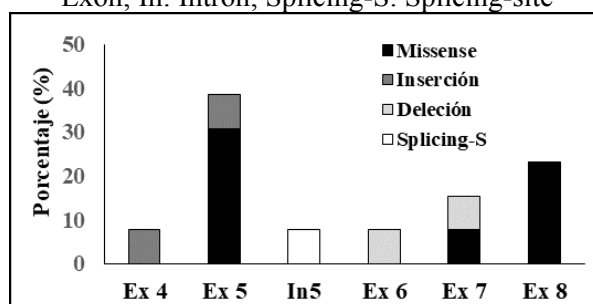


Tabla 1. Mutaciones del gen TP53 en pacientes con LLC.

Caso	Exón/Intrón Codón	Muta- ción	cDNA	Proteína	aa WT	aa muta- do	IGHV	del17p13 (%)
1	4/73	I-FS	c214_214ins1 (insC)	pV72FS	Val	-	NM	35,1
2	5/156	Mi-TV	c467G>C	pR156P	Arg	Pro	NM	44,3
3	5/157	I-FS	c469_472ins4 (insTCCG)	pV157FS	Val	-	NM	24,4
4	I5/164-1	SS-TS	c560-1G>A	-	-	-	-	88,0
5	6/209	del-FS	c625_626del2(del-GA)	pR209FS	Arg	-	M	20,3
6	8/272	Mi-TS	c814G>A	pV272M	Val	Met	M	60,0
7	8/279	Mi-TS	c386G>A	pG279E	Gly	Glu	NM	25,0
8	7/248	Mi-TS	c742C>T	pR248W	Arg	Trp	NM	-
9	7/247	del	c.740_754del15	p.Asn247_Ile251del	-	-	M	70,6
10	5/163	Mi-TV	c487T>A	pT163N	Tyr	Asn	NM	0
11	5/131 5/152 8/276	Mi-TV Mi-TS Mi-TV	c.392A>T, c.454C>T, c.826G>C	pAsn131Ile pPro152Ser pAla276Pro	Asn Pro Ala	Ile Ser Pro	-	0

I: inserción; del: deleción; FS: corrimiento del marco de lectura; Mi: cambio de sentido; SS: sitio de splicing; TS: transición; TV: transversión; aa: aminoácido; WT: variante natural; IGHV: región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina; NM: no mutado.

($p=0,001$). El análisis citogenético mostró alteraciones cromosómicas en 100% de los casos con *TP53*-M respecto del 55% de los NM.

Las mutaciones del gen *TP53* en la práctica clínica

La técnica de FISH detecta sólo las deleciones, no las mutaciones^(17,18), por lo cual resulta importante la búsqueda de mutaciones, utilizando la secuenciación de Sanger o técnicas de secuenciación de última generación (NGS). Si bien la secuenciación de Sanger convencional es una técnica ampliamente utilizada para evaluar el estado mutacional del gen *TP53* en la práctica clínica y constituye una técnica accesible, tiene un límite de detección para alelos mutados de 10-20%, careciendo de sensibilidad para detectar subclones menores que albergan mutaciones de este gen. Por el contrario, la técnica de NGS permite la detección de clones menores mutados, con frecuencia alélica aún por debajo del 1%. Además, se ha demostrado que los subclones menores de *TP53*-M tienen valor pronóstico desfavorable, como ocurre con los clones mayores^(10,14). Sin embargo, hasta el presente el nivel recomendado para reportar mutaciones por NGS es cercano al límite de detección de la técnica de Sanger (10%); más estudios clínicos prospectivos resultan necesarios para validar el significado clínico de las mutaciones con frecuencia alélica menor de 10% indetectables por secuenciación de Sanger^(8,16).

Resulta de interés destacar que el análisis secuencial de la del17p13 y de mutaciones de *TP53* ha permitido demostrar la existencia de evolución

clonal después del tratamiento, en la primera recaída o subsiguientes⁽¹⁹⁾. La mayoría de los clones menores de *TP53*-M se expanden y constituyen el clon dominante bajo la presión selectiva de la quimioterapia, transformándose en un factor de impacto negativo en la evolución de la enfermedad. La adquisición de mutaciones nuevas en pacientes no tratados es rara^(20,21). La utilidad clínica del análisis de la mutación *TP53* en la LLC ha sido bien documentada por diferentes estudios, incluyendo los hallazgos de ensayos clínicos prospectivos, siendo de importancia efectuarla antes del inicio de cada línea de tratamiento^(20,22).

Concluyendo, la detección de las deleciones y mutaciones del gen *TP53* se ha convertido en una parte integral del diagnóstico de rutina. El análisis de los exones 4-10 del gen es un requisito necesario, y puede ser realizado por secuenciación de Sanger bidireccional o secuenciación masiva. Estas anomalías conducen al uso obligado de terapias con mecanismos de acción independientes de p53, con drogas que inhiben la señalización de células B y BCL2 anti-apoptótica⁽²³⁾. Varios agentes terapéuticos relativamente nuevos han demostrado una mejora en la evolución clínica de los pacientes con LLC con mutaciones del gen *TP53*^(22,24). Sin duda, la profundización de estos estudios permitirá lograr un mayor conocimiento de las causas de la variabilidad clínica presente en los pacientes con LLC, situación que hará factible mejorar la predicción del comportamiento de la enfermedad en el marco de una medicina personalizada.

Conflictos de interés: Las autoras declaran no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

1. Smith A, Howell D, Patmore R, Roman E. Incidence of haematological malignancy by sub-type: a report from the Haematological Malignancy Research Network. *Br J Cancer*. 2011; 105:1684-92.
2. Van Dyke DL, Werner L, Rassenti LZ y col. The Dohner fluorescence in situ hybridization prognostic classification of chronic lymphocytic leukaemia (CLL): the CLL Research Consortium experience. *Br J Haematol*. 2016; 173: 105-13.
3. Zenz T, Kröber A, Scherer K y col. Monoallelic. *TP53* inactivation is associated with poor prognosis in chronic lymphocytic leukemia: results from a detailed genetic characterization with long-term follow-up. *Blood*. 2008; 112: 3322-9.
4. Zenz T, Häbe S, Denzel T, Mohr J, Winkler D, Bühler A y col. Detailed analysis of p53 pathway defects in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia (CLL): dissecting the contribution of 17p deletion, *TP53* mutation, p53-p21 dysfunction, and miR34a in a prospective clinical trial. *Blood*. 2009; 114: 2589-97.
5. Rossi D, Cerri M, Deambroggi C y col. The prognostic

- value of TP53 mutations in chronic lymphocytic leukemia is independent of Del17p13: implications for overall survival and chemorefractoriness. *Clin Cancer Res.* 2009; 15: 995-1004.
6. Dicker F, Herholz H, Schnittger S y col. The detection of TP53 mutations in chronic lymphocytic leukemia independently predicts rapid disease progression and is highly correlated with a complex aberrant karyotype. *Leukemia.* 2009; 23: 117-24.
 7. Gonzalez D, Martinez P, Wade R y col. Mutational status of the TP53 gene as a predictor of response and survival in patients with chronic lymphocytic leukemia: results from the LRF CLL4 trial. *J Clin Oncol.* 2011; 29: 2223-9.
 8. Campo E, Cymbalista F, Ghia P y col. TP53 aberrations in chronic lymphocytic leukemia: an overview of the clinical implications of improved diagnostics. *Haematologica.* 2018; 103: 1956-68.
 9. Zenz T, Eichhorst B, Busch R y col. TP53 mutation and survival in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol.* 2010; 28: 4473-9.
 10. Rossi D, Khiabani H, Spina V y col. Clinical impact of small TP53 mutated subclones in chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2014; 123: 2139-47.
 11. Nadeu F, Delgado J, Royo C y col. Clinical impact of clonal and subclonal TP53, SF3B1, BIRC3, NOTCH1, and ATM mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2016; 127: 2122-30.
 12. Malcikova J, Pavlova S, Kozubik KS y col. TP53 mutation analysis in clinical practice: lessons from chronic lymphocytic leukemia. *Hum Mutat.* 2014; 35: 663-71.
 13. Zenz T, Vollmer D, Trbusek M y col. TP53 mutation profile in chronic lymphocytic leukemia: evidence for a disease specific profile from a comprehensive analysis of 268 mutations. *Leukemia.* 2010; 24: 2072-9.
 14. Malcikova J, Stano-Kozubik K, Tichy B y col. Detailed analysis of therapy-driven clonal evolution of TP53 mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia.* 2015; 29: 877-85.
 15. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D y col. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood.* 2018; 131: 2745-60.
 16. Malcikova J, Tausch E, Rossi D y col. ERIC recommendations for TP53 mutation analysis in chronic lymphocytic leukemia-update on methodological approaches and results interpretation. *Leukemia.* 2018; 32: 1070-80.
 17. Baran-Marszak F, Vidal V, Hormi M y col. A retrospective analysis of 450 TP53 mutations in a real life cohort of CLL from the French Innovative Leukemia Organization (FILO) group. *Blood.* 2017; 130:1722.
 18. Leroy B, Ballinger ML, Baran-Marszak F y col. Recommended guidelines for validation, quality control, and reporting of TP53 variants in clinical practice. *Cancer Res.* 2017; 77: 1250-60.
 19. Landau DA, Tausch E, Taylor-Weiner AN y col. Mutations driving CLL and their evolution in progression and relapse. *Nature.* 2015; 526: 525-30.
 20. Nadeu F, Clot G, Delgado J y cols. Clinical impact of the subclonal architecture and mutational complexity in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia.* 2018; 32: 645-53.
 21. Pospisilova S, Gonzalez D, Malcikova J y col. ERIC recommendations on TP53 mutation analysis in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia.* 2012; 26: 1458-61.
 22. Bucchieri V, Barreto WG, Fogliatto LM, Capras M, Marchianis M, Rocha V. Prognostic and therapeutic stratification in CLL: focus on 17p deletion and p53 mutation. *Ann Hematol.* 2018; 97: 2269-78.
 23. Brown JR, Byrd JC, Coutre SE y col. Idelalisib, an inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase p110δ, for relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2014; 123: 3390-7.
 24. Gaidano G, Rossi D. The mutational landscape of chronic lymphocytic leukemia and its impact on prognosis and treatment. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2017; 2017: 329-37.



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.

Deleciones de *BIRC3* en leucemia linfocítica crónica

BIRC3 deletions in chronic lymphocytic leukemia

Galvano C, Slavutsky I.

Laboratorio de Genética de Neoplasias Linfoides
Instituto de Medicina Experimental
CONICET-Academia Nacional de Medicina

islavutsky@hematologia.anm.edu.ar



ACTUALIZACIÓN
EN LEUCEMIA
LINFÁTICA CRÓNICA

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 295-299
Octubre 2019

Palabras claves: leucemia linfocítica crónica, deleciones *BIRC3*, FISH.

Keywords: chronic lymphocytic leukemia, *BIRC3* deletions, FISH.

Introducción

La leucemia linfocítica crónica (LLC) es la leucemia más frecuente en Occidente, representando el 30% de las leucemias del adulto^(1,2). Se asocia a numerosas alteraciones genéticas, siendo el perfil genético de las células tumorales de alto valor pronóstico e impacto en las decisiones terapéuticas. Un aspecto característico de esta entidad es la diferencia en la evolución clínica de los pacientes, con algunos casos que requieren tratamiento inmediato y otros que presentan un curso más indolente de la enfermedad, no siendo suficientes los sistemas de estadificación y los parámetros biológicos disponibles para predecir este comportamiento diferente. Esto hace necesario poder contar con marcadores que permitan clarificar en forma más precisa el curso clínico de los pacientes y su respuesta al tratamiento. En este aspecto, los estudios genéticos constituyen herramientas de suma utilidad en la comprensión de la heterogeneidad que caracteriza a la LLC, resultando de relevancia por sus implicancias clínicas en el diagnóstico, pronóstico y respuesta al tratamiento,

encontrándose incorporados a las clasificaciones de riesgo internacionales. Los mismos resultan de utilidad no sólo como marcadores de valor diagnóstico y/o pronóstico sino también en la comprensión de los mecanismos implicados en el proceso de desarrollo y progresión neoplásica. Particularmente, los estudios citogenéticos y de FISH (*fluorescence in situ hybridization*) han permitido establecer grupos de riesgo de alto valor pronóstico⁽³⁻⁵⁾. Asimismo, las mutaciones en los genes *IGHV* (*immunoglobulin heavy chain variable region*) han hecho factible dividir a la LLC en dos grupos acorde al nivel de homología respecto a la línea germinal: mutado (M) (<98%) con mejor pronóstico, y no-mutado (NM) (≥98%) asociado a peor evolución clínica^(6,7). Más recientemente, estudios de secuenciación de última generación (NGS: next generation sequencing) permitieron la detección de mutaciones somáticas previamente desconocidas en esta patología, que podrían explicar, en parte, la amplia variabilidad clínica observada en estos casos y las respuestas di-

símiles a la terapia^(8,9). Entre ellas cabe mencionar las disrupciones del gen *BIRC3* (*baculoviral IAP repeat-containing protein 3*), deleciones y mutaciones, que podrían constituir nuevos marcadores moleculares en LLC^(10,11). Las alteraciones de *BIRC3* presentan muy baja frecuencia en los pacientes al diagnóstico (4%), alcanzado valores más elevados (24%) en los casos refractarios al tratamiento con fludarabina⁽¹⁰⁾.

El gen *BIRC3* se encuentra localizado a nivel de 11q22.2; comprende 9 exones y codifica para una proteína compuesta por 602 aminoácidos, perteneciente a la familia IAP (*inhibitor of apoptosis*) inicialmente descrita en células infectadas por virus⁽¹²⁾. En adultos se expresa principalmente en tejido linfoide, particularmente en bazo y linfocitos de sangre periférica. *BIRC3* coopera en un complejo proteico junto con TRAF2 y TRAF3 (*tumor necrosis factor receptor-associated factors 2 and 3*) en la regulación negativa de la vía no canónica de NF-κB (Nuclear factor kappa B)^(13,14). Dicha vía está asociada a un mecanismo de resistencia al tratamiento con fludarabina y a la regulación de genes antiapoptóticos. *BIRC3* se encuentra involucrado en el mantenimiento de los niveles de *TP53*, a través de la modulación de *MDM2* (*Mouse Double Minute 2, Human Homolog*), y su represión contribuye a la progresión neoplásica⁽¹⁵⁾. Las mutaciones de este gen en LLC determinan la ruptura del dominio RING en el extremo C-terminal de la proteína, cuya actividad es necesaria para permitir la degradación del proteasoma a través de MAP3K14 (*Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase 14*), llevando a la activación constitutiva de NF-κB, considerado como un mecanismo de resistencia a la erradicación de la leucemia⁽¹⁴⁾.

BIRC3 se encuentra ubicado a 6Mb centromérico al locus de *ATM* (*ataxia telangiectasia mutated*) (11q22.3) (Figura 1a). Diferentes estudios han detectado la deleción de *BIRC3* coexistiendo con la pérdida de *ATM* (83% de los casos)^(10,11,16), situación que sustenta la alta variabilidad en el tamaño de esta alteración, y permite distinguir entre deleciones “grandes o clásicas” (más comunes) y “pequeñas o atípicas” (menos frecuentes)^(11,17). Más recientemente, Raponi et al⁽¹⁸⁾ observaron recuentos altos de glóbulos blancos, estadios clínicos avanzados, curso clínico muy agresivo y corto tiempo al primer

tratamiento en pacientes con LLC que presentaban inactivación bialélica de *BIRC3* (deleción en un alelo y mutación en el otro) (7,5% de los casos). Estos hallazgos resultan de interés y sugieren la importancia de incluir estos estudios en la caracterización genética de la LLC a fin de refinar la estratificación pronóstica de los pacientes.

Nuestra experiencia

Durante el período 2015-2019 en nuestro Laboratorio se analizaron 190 pacientes con LLC, de los cuales 22 (11.6%) presentaron del11q22 (13 hombres; edad media: 71,4 años, rango: 54-86 años; estadios Rai: 0: 7,7%, I-II: 38,5%, III-IV: 53,8%). En todos ellos se efectuó cultivo de linfocitos de sangre periférica estimulado, realizándose estudio citogenético con bandeo G y FISH empleando el panel de sondas de LLC. Se analizó asimismo, el estado mutacional de *IGHV* mediante RT-PCR y secuenciación bidireccional. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética Institucional. Todos los individuos proporcionaron su consentimiento informado.

Este análisis permitió observar deleción en *BIRC3* en 20/22 pacientes (90.9%) con del11q22 (Figura 1b y 1c). El 31,8% de los casos mostró porcentajes similares de células con deleción en *ATM* y *BIRC3*, un 9,1% presentó mayor frecuencia de deleción en *ATM* frente a *BIRC3* y un 36.4% mayor porcentaje de deleción en *BIRC3*. Dos casos mostraron sólo pérdida de *BIRC3* (13,6%) (Figura 2). Estos datos muestran una fuerte asociación entre la pérdida de *BIRC3* y *ATM*, indicando una mayor frecuencia de deleciones grandes en nuestros pacientes (77,3% de los casos).

En cuanto a la asociación con las características citomoleculares, pudimos observar que el 91% de los casos presentó dos o más alteraciones por FISH, detectándose deleción de *TP53* en el 45,5% de los casos. Asimismo, el 68,2% de los pacientes mostró cariotipo anormal, de los cuales el 40% eran cariotipos complejos, indicando un alto grado de inestabilidad genómica en estos pacientes. En el 32% de los casos se observó la del11q22 por citogenética convencional. Simultáneamente, el estado mutacional de *IGHV* fue evaluado en 13 pacientes, 10 (76.9%) de los cuales presentaron *IGHV*-NM, parámetro asociado a mal pronóstico. Todos los pacientes mostraron un tiempo corto al primer tratamiento

Figura 1. a) Diagrama representando al cromosoma 11 con la ubicación de los genes *BIRC3* (11q22.2) y *ATM* (11q22.3). b) Cariotipo parcial mostrando el cromosoma 11 normal y la delección 11q22. c) Núcleos interfásicos hibridados con la sonda IAP(*BIRC3*)(11q22.2) (roja)/*MALT1*(18q21) (verde) (LiVE-LEXEL, Buenos aires, Argentina) mostrando delección de *BIRC3* (flecha).

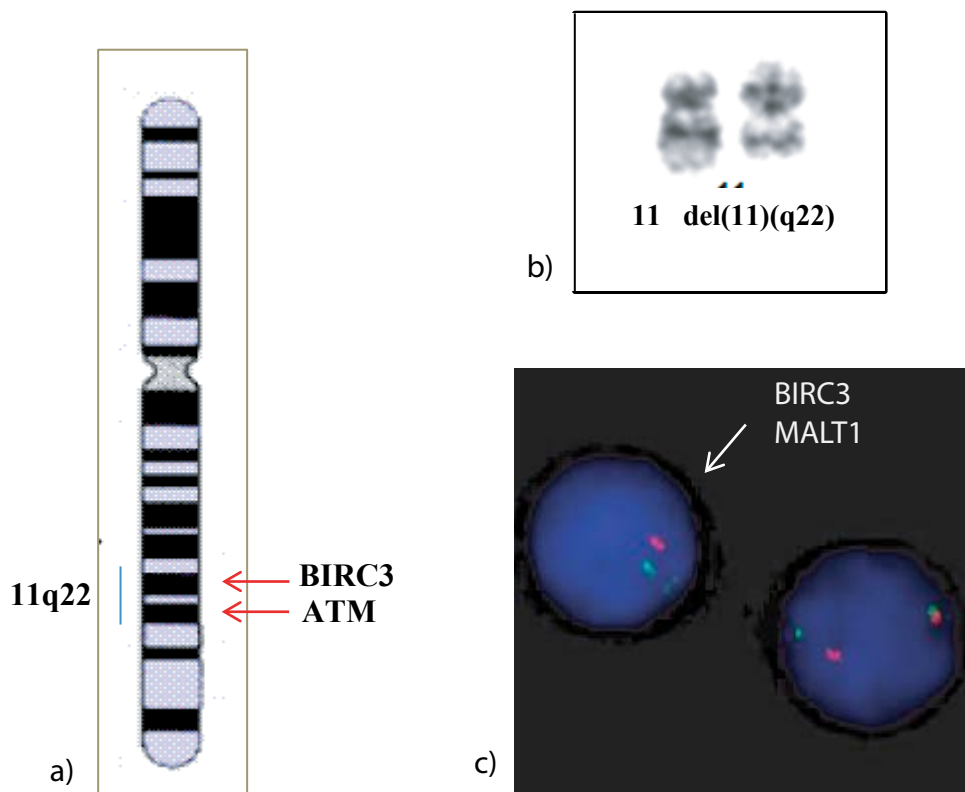
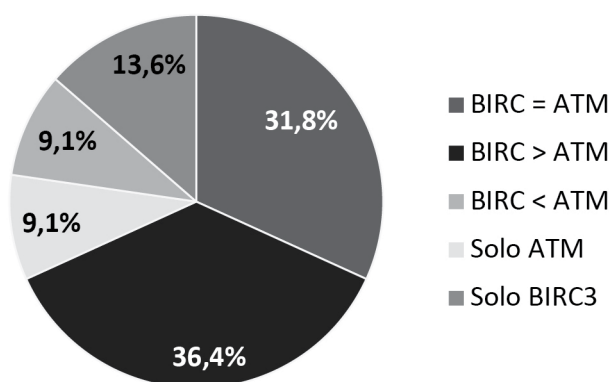


Figura 2. Gráfico mostrando la distribución de las delecciones de *BIRC3* y *ATM* en pacientes con LLC.



(media: 6 meses; rango: 1-12 meses).

Conclusiones

A nuestro conocimiento el presente es el primer análisis de delecciones de *BIRC3* en pacientes con LLC de nuestro país. En concordancia con datos previos de la literatura^(11,17,19), nuestros resultados muestran una mayor presencia de grandes delecciones de 11q22, así como una alta frecuencia de cariotipos anormales y complejos, y de dos o más alteraciones por FISH, parámetros asociados a inestabilidad genómica. Asimismo, resulta interesante destacar que en nuestra serie se observó delección de *TP53* en casi el 50% de los casos con pérdida de *BIRC3*, frecuencia mucho mayor que la observada en la literatura^(10,11). Como sabemos, las proteínas p53 y ATM son reguladores centrales de la respuesta al daño al ADN, y su inactivación por delección o mutación lleva a un aumento de la proliferación celular con acumulación de daño al ADN que favorece la progresión tumoral⁽²⁰⁻²²⁾. Si bien nuestro estudio se ha focalizado en los genes *ATM* y *BIRC3*, distintos estudios de delecciones de 11q muestran la pérdida simultánea de otros genes,

relacionados con diferentes vías regulatorias que podrían impactar en la patogénesis de la LLC⁽²³⁾. Entre ellos cabe destacar *MRE11A* (*Meiotic Recombination 11-Like Protein A*) y *H2AFX* (*H2A Histone Family Member X*), involucrados en la respuesta al daño al ADN activadas por rupturas de doble cadena, que ejercerían un efecto sinérgico con *ATM* en el desarrollo de inestabilidad genómica^(16,23). Dicha inestabilidad se encuentra asociada a pronóstico adverso en LLC^(24,25), evidenciada en nuestros pacientes por el corto tiempo al primer tratamiento. Finalmente, la presencia de casos con delección de *BIRC3* sin pérdida de *ATM* sugiere la importancia de efectuar el análisis de este gen a fin de refinar la estratificación pronóstica de la LLC, contribuyendo a la caracterización biológica de la patología y al seguimiento clínico de los pacientes.

Agradecimientos

El presente trabajo se efectuó con subsidios de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT) y el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Conflictos de interés: Las autoras declaran no poseer conflictos de interés

Bibliografía

- Chiorazzi N, Rai KR, Ferrarini M. Chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2005; 352: 804-15.
- Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2017 update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *Am J Hematol*. 2017; 92: 946-65.
- Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A y col. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2000; 343: 1910-6.
- Van Dyke DL, Werner L, Rassenti LZ y col. The Döhner fluorescence in situ hybridization prognostic classification of chronic lymphocytic leukaemia (CLL): the CLL Research Consortium experience. *Br J Haematol*. 2016; 173: 105-13.
- Baliakas P, Jeromin S, Iskas M y col. Cytogenetic complexity in chronic lymphocytic leukemia: definitions, associations, and clinical impact. *Blood*. 2019; 133: 1205-16.
- Hamblin TJ, Davis Z, Gardiner A y col. Unmutated Ig VH genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukaemia. *Blood*. 1999; 94: 1848-54.
- Damle RN, Wasil T, Fais F y col. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1999; 94: 1840-7.
- Baliakas P, Hadzidimitriou A, Sutton LA y col. Recurrent mutations refine prognosis in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2015; 29: 329-36.
- Nadeu F, Delgado J, Royo C y col. Clinical impact of clonal and subclonal TP53, SF3B1, BIRC3, NOTCH1, and ATM mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2016; 127: 2122-30.
- Rossi D, Fangazio M, Rasi S y col. Disruption of BIRC3 associates with fludarabine chemorefractoriness in TP53 wild-type chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2012; 119: 2854-62.
- Alhourani E, Othman MA, Melo JB y col. BIRC3 alterations in chronic and B-cell acute lymphocytic leukemia patients. *Oncology Letters*. 2016; 11: 3240-6.
- Silke J, Vaux DL. Two kinds of BIR-containing protein - inhibitors of apoptosis, or required for mitosis. *J Cell Sci*. 2001; 114: 1821-7.

13. Zarnegar BJ, Wang Y, Mahoney DJ y col. Non canonical NF-kappa B activation requires coordinated assembly of a regulatory complex of the adaptors cIAP1, cIAP2, TRAF2 and TRAF3 and the kinase NIK. *Nat Immunol.* 2008; 9: 1371-8.
14. Conze DB, Zhao Y, Ashwell JD. Non-canonical NF-κB activation and abnormal B cell accumulation in mice expressing ubiquitin protein ligase-inactive c-IAP2. *PLoS Biol.* 2010; 8:e1000518.
15. Lau R, Niu MY, Pratt MA. cIAP2 represses IKKα/β-mediated activation of MDM2 to prevent p53 degradation. *Cell Cycle.* 2012; 11: 4009-19.
16. Rose-Zerilli MJ, Forster J, Parker H y col. ATM mutation rather than BIRC3 deletion and/or mutation predicts reduced survival in 11qdeleted chronic lymphocytic leukemia: data from the UK LRF CLL4 trial. *Haematologica.* 2014; 99: 736-42.
17. Marasca R, Maffei R, Martinelli S y col. Clinical heterogeneity of de novo 11q deletion chronic lymphocytic leukaemia: prognostic relevance of extent of 11q deleted nuclei inside leukemic clone. *Hematol Oncol.* 2013; 31: 348-55.
18. Raponi S, Del Giudice I, Ilari C y col. Biallelic BIRC3 inactivation in chronic lymphocytic leukaemia patients with 11q deletion identifies a subgroup with very aggressive disease. *Br J Haematol.* 2019; 185: 156-9.
19. Ouillet P, Collins R, Shakhan S y col. Acquired genomic copy number aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2011; 118: 3051-61.
20. Starostik P, Manshouri T, O'Brien S y col. Deficiency of the ATM protein expression defines an aggressive subgroup of B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Res.* 1998; 58: 4552-7.
21. Vousden KH and Lane DP. p53 in health and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007; 8: 275-83.
22. Callén E, Jankovic M, Difilippantonio S y col. ATM prevents the persistence and propagation of chromosome breaks in lymphocytes. *Cell.* 2007; 130: 63-75.
23. Ouillet P, Fossum S, Parkin B y col. Aggressive chronic lymphocytic leukemia with elevated genomic complexity is associated with multiple gene defects in the response to DNA double-strand breaks. *Clin Cancer Res.* 2010; 16: 835-47.
24. Palmitelli M, Stanganelli C, Stella F y col. Analysis of basal chromosome instability in patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Mutagenesis.* 2019. doi: 10.1093/mutage/gez009.
25. Dos Santos P, Panero J, Palau Nagore V y col. Telomere shortening associated with increased genomic complexity in chronic lymphocytic leukemia. *Tumour Biol.* 2015; 36: 8317-24.



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

A 35 años de una obsesión. Linfoma de células grandes anaplásicas CD30+

Anaplastic Large Cell Lymphoma CD30+. 35 years from an obsession

Narbaitz MI

*Departamento de Patología Diagnóstica. Instituto de Investigaciones Hematológicas "Mariano R. Castex". Academia Nacional de Medicina
Laboratorio de Patología. FUNDALEU. Buenos Aires. Argentina*

mnbaitz@gmail.com



CONFERENCIA
NACIONAL
DR. ALFREDO
PAVLOVSKY

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 300-310
Octubre 2019

Palabras claves: linfoma de grandes células anaplásicas (ALCL), CD30, ALK (proteína quinasa -linfoma anaplásico).

Keywords: anaplastic large cell lymphoma (ALCL), CD30, ALK (anaplastic lymphoma protein kinase).

1. Introducción

El linfoma de grandes células anaplásicas (ALCL) corresponde a uno de los linfomas originados en las células T que, basados en los adelantos del proceso diagnóstico, ha podido reclasificarse descubriendo nuevos subtipos.

Todos comparten una expresión destacada de CD30 y expresión variable de los marcadores T. A partir del descubrimiento de una proteína de fusión que se denominó *anaplastic lymphoma protein kinase* (ALK), la cual es resultado de una translocación cromosómica, se definen diferentes subgrupos de los ALCL.

Esta entidad fue descripta en el año 1985 por Harald Stein en la Universidad de Kiel, Alemania^(1,2). Ya desarrollado el anticuerpo Ki1, que se expresa en las células de Reed Sternberg, en las pruebas de validación se reconoce la expresión de esta proteína en casos que morfológicamente eran encasillados como histiocitosis maligna(HM) o neoplasias no

hematológicas. Allí se describe una morfología más cercana a una histiocitosis maligna, células grandes con crecimiento cohesivo, compromiso de los sinusoides que presentaban un fenotipo por inmunohistoquímica cercano al conocido en ese momento de la célula de Reed Sternberg (RS) del linfoma de Hodgkin (HL). Compartían la fuerte expresión de Ki1 (designado mas tarde en el *Cluster* de Diferenciación como CD30)⁽²⁾.

Estas similitudes los tendrán por un tiempo como una entidad relacionada con el HL y la HM.

Se reconoce por primera vez como entidad en la clasificación de Kiel en 1988⁽³⁾, posteriormente en la REAL en 1994 y más tarde en la de la OMS 2001^(3,4). La incorporación de los estudios del receptor de células T (TCR) confirmó su derivación de las células T y llevó a reconocer ALCL como un subtipo único de linfoma de células T periféricas (PTCL) que carece de expresión de proteínas de superficie relacio-

nadas con células T^(2,5).

En 1994, el descubrimiento de la translocación t(2;5) (p23; q35) fusionando el gen de la denominada quinasas del linfoma anaplásico (ALK) y el gen de la nucleofosmina (NPM1) en la mayoría de los casos de ALCL, sugiere dentro del mismo la presencia de dos entidades⁽⁶⁾. Se incluye en la clasificación OMS 2008 el ALCL-ALK (+) como una entidad definida y el ALCL-ALK (-) sistémico se mantuvo como una entidad provisional⁽⁷⁾. En la actualidad se han estudiado las diferencias en epidemiología, presentaciones clínicas y hallazgos moleculares apoyando su distinción de otros PTCL que expresan CD30^(8,9). Actualmente el ALCL-ALK (-) se reconoce como una entidad distinta⁽¹⁾. Estos estudios permitieron reconocer dentro de las entidades heterogéneas desde lo morfológico, fenotípico y molecular, que incluyen la oncogénesis de las mismas, definir entidades con un pronóstico variable.

De acuerdo a la presentación clínica, los hallazgos morfológicos, fenotípicos y moleculares la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) 2016 reconoce cuatro entidades con presentación clínica y pronóstico diferente, siendo ellos ALCL sistémico ALK positivo (ALCL-ALK (+)), ALCL sistémico ALK negativo (ALCL-ALK (-)), ALCL primario cutáneo (pALCL), y ALCL asociado a implantes mamarios (BI-ALCL), esta última aún como entidad provisional.

La última entidad que se ha agregado dentro del subgrupo de ALCL asociada con el seroma crónico que se forma circundando a los implantes mamarios, designado como ALCL asociado a implantes mamarios (BI-ALCL)⁽¹⁾. La etiología y la patogenia de la BI-ALCL se han relacionado con la reacción inmune a la silicona.

2. Subtipos

2.1. Linfoma de células grandes anaplásicas ALK positivo (ALCL-ALK (+))

Lo conforman células linfoides grandes con núcleos pleomórficos y citoplasma abundante, a menudo en forma de herradura, con fuerte expresión de CD30 y translocación cromosómica ALK⁽¹⁾. Representa entre el 1% y el 3% de los adultos y el 10% y 20% de los LNH pediátricos y adolescentes^(1,10). Estos reportes corresponden a países europeos y EEUU, sin hallarse reportes globales de América Latina.

Se da predominantemente en niños y adultos jóve-

nes con un ligero predominio masculino, con comportamiento agresivo, adenopatías progresivas y síntomas B.

Los ganglios linfáticos se hallan comprometidos en un 90% y comprometen el mediastino en un 36%. Puede presentarse un compromiso extranodal variable, siendo piel, hueso y tejidos blandos los más frecuentes⁽¹¹⁻¹²⁾.

El compromiso del sistema nervioso central no es frecuente. La afectación leucémica es rara y desfavorable desde el punto de vista del pronóstico, y ocurre con mayor frecuencia en la variante de células pequeñas de ALCL-ALK(+) ^(13,14). La afectación de la médula ósea (BM) se observa en hasta el 40% de los casos.

La *presentación histológica* es variable y dio lugar a distintos subgrupos morfológicos, el más frecuente es el *patrón común o clásico*, que se da en un 60 a 70%, con numerosas células que son distintivas o características (*hallmark*) con núcleos pleomórficos, con escotaduras, nucléolos pequeños y citoplasma abundante^(15,16). Pueden hallarse células de gran diámetro, con núcleos múltiples de tipo células de RS, pero nunca presentan el gran nucléolo clásico de estas células, de tipo inclusión viral. Se encuentran, además, células grandes con imágenes nucleares artefactuales, producto de una invaginación nuclear que sugieren una inclusión denominada "células *donut*". Es característica la invasión de los senos linfáticos perivasculares y sinusoides con células en pequeños grupos bien delimitadas con CD30⁽¹⁵⁾.

El *patrón de células pequeñas* (5-10%) está constituido predominante por células neoplásicas de tamaño pequeño a mediano con citoplasma claro y membranas celulares definidas. El núcleo de las células neoplásicas puede ser en forma de herradura o redondo, y las células se concentran alrededor de los vasos sanguíneos, formando rosetas. La expresión de CD30 ayuda a la identificación, ya que esta morfología puede confundirse con la de un PTCL "no especificado" (PTCL-NOS) con expresión de CD30^(17,18).

El *patrón linfohistiocítico* (10%) se caracteriza morfológicamente por la presencia de pequeñas células neoplásicas mezcladas con abundantes histiocitos. Los histiocitos que suelen predominar enmascaran las células neoplásicas, y pueden conducir a un diagnóstico erróneo de HM⁽¹⁹⁾. Se postula la rela-

ción entre este patrón y el de células pequeñas por el escaso número de células anaplásicas.

El *patrón tipo Hodgkin* es muy raro (3% de ALCL-ALK(+)). La presencia de fibrosis nodular y el fondo inflamatorio sugieren un LH tipo esclerosis nodular, con fondo inflamatorio^(20,21) y la expresión de ALK define el diagnóstico diferencial.

El *patrón compuesto* (15% de los casos), es la presencia de más de un patrón⁽¹⁵⁾. Pueden presentarse patrones tales como la variante sarcomatosa con células neoplásicas en fondo mixoide, pudiendo diagnosticarse erróneamente como sarcomas de tejidos blandos.

El *inmunofenotipo* del ALCL-ALK(+) muestra una expresión fuerte y uniforme de CD30^(2,22). Es fundamental tener en cuenta que la expresión de CD30 no es específica para las células tumorales ALCL, también se encuentra en las células B o T activadas^(23,24), en LHC⁽²⁾, en un grupo de PTCL-NOS⁽²⁵⁾ y en tumores sólidos⁽²⁶⁻²⁷⁾. La expresión habitual en el ALCL de CD30 es fuerte y homogénea en la membrana celular y en la región de Golgi en todos los patrones morfológicos, con excepción de la variante de células pequeñas⁽²⁹⁾.

La mayoría expresan uno o más antígenos T relacionados⁽¹⁾, pero la falta de antígenos pan T sugirió la posibilidad de un linfoma nulo, hipótesis desestimada por la presencia de rearrreglos del receptor T. El CD3 es negativo en más del 75% de los casos⁽¹⁾. CD2, CD5, y CD4 son positivos hasta en un 70%. La mayoría de los casos presentan moléculas citotóxicas (TIA 1, granzima B y/o perforina⁽¹⁾). CD43 es expresado en dos tercios, aunque no es un marcador específico. La expresión de CD45 es variable.

El desarrollo del anticuerpo monoclonal que detecta la expresión de la proteína ALK con una alta sensibilidad y especificidad⁽²⁹⁾, que detectada por inmunohistoquímica muestra una alta correlación con la presencia de reordenamientos detectados por otros métodos de estudio genético (cariotipo, hibridación con fluorescencia in situ (FISH) o la secuenciación) convirtiéndola en el estándar oro para el diagnóstico de ALCL-ALK(+). La expresión de ALK tendrá patrones diferentes según el partner en la translocación, siempre involucrando el gen ALK, presentando tinción citoplasmática, nuclear y nucleolar⁽²⁹⁾. En la variante de células pequeñas, la tinción con ALK generalmente se limita al núcleo.

Los *hallazgos genéticos y moleculares* en más del

80% de los casos presenta una translocación citogenética t(2;5), que fusiona el gen ALK, dominio del receptor tirosina quinasa, en 2p23 con el gen de la nucleofosmina (NPM) en 5q35, lo que conlleva una sobreexpresión y activación constitutiva de una proteína de fusión ALK quimérica, que desempeña un papel importante en la oncogénesis mediada por ALK⁽⁶⁾. Ésta es la más frecuente dentro de las varias posibles, pero todas las translocaciones de variantes conducen a la activación constitutiva de ALK-tirosina quinasa y representan la alteración crítica en este linfoma^(30,31).

Las proteínas de fusión ALK constitutivamente activas promueven la tumorigénesis mediante la activación de múltiples vías de transducción de señales mediante la fosforilación y activación de transmisores y vías de señalización^(32,33).

Estudios recientes han revelado que el factor regulador de interferón 4 (IRF4) promueve la supervivencia de las células neoplásicas mediante la activación del factor de transcripción MYC. Se ha demostrado que IRF4 induce la supervivencia de células neoplásicas de ALCL^(34,35). La activación de mecanismos que involucren a IRF4 y MYC que activado promueve la proliferación celular y la apoptosis⁽³⁷⁾, lleva a investigar estrategias de dianas terapéuticas sobre la actividad de genes⁽³⁴⁻³⁶⁾.

Las tecnologías de hibridación genómica comparativa (CGH) han demostrado la presencia de desequilibrios cromosómicos secundarios en el 58% de ALCL-ALK(+), incluidas las ganancias de 6q, 7p, 17p y 17q24 y las pérdidas de 4q, 13-q21 y 11q14⁽³⁸⁾.

El *diagnóstico diferencial* de ALCL sistémico incluye neoplasias hematopoyéticas y no hematopoyéticas. El ALCL puede presentar algunas características morfológicas e inmunofenotípicas que simulan un carcinoma metastásico, como el patrón de crecimiento sinusoidal, la pérdida de CD45 en la mitad de los casos, la expresión de EMA y de citoqueratinas focales, lo que conduce a un diagnóstico erróneo de neoplasias no hematopoyéticas, siendo la expresión fuerte y uniforme de CD30 un elemento clave en el diagnóstico diferencial con neoplasias no hematopoyéticas^(27,39).

Debe distinguirse de los linfomas de células B grandes ALK(+) y las neoplasias no hematopoyéticas que expresan ALK (tumores inflamatorios miofibroblásticos, rhabdomyosarcomas y neuroblastomas)^(16,40,41). En los linfomas ALK(+) de células B gran-

des las células neoplásicas carecen de reactividad de CD20 y CD30, pero son positivas para ALK, mostrando un patrón citoplasmático granular indicativo de la proteína de fusión CTLC-ALK⁽⁴²⁾. En los niños, puede haber raros casos de HM con expresión de ALK, pero el fenotipo se relaciona a la neoplasia histiocítica⁽⁴³⁾.

2.2. Linfoma anaplásico de células grandes anaplásico ALK negativo (ALCL-ALK(-))

El ALCL-ALK(-) sistémico tiene una morfología y un fenotipo similares a ALCL-ALK(+), pero, por definición, carece de alteraciones ligadas a ALK y de expresión proteica ALK⁽¹⁾. Suele afectar a adultos con un ligero predominio masculino; la edad media de diagnóstico es entre 55 y 60 años⁽⁸⁾. La mitad de los casos involucran ganglios linfáticos y sólo el 20% de los casos muestran una presentación extranodal. Dos terceras partes de los pacientes se diagnostican en el estadio III-IV de la enfermedad y muestran un pronóstico desfavorable, generalmente peor que el ALCL-ALK(+) sistémico⁽⁹⁾.

Las *características morfológicas* presentan similitudes al ALK(+), playas sólidas de células grandes, cohesivas. Se describen casos donde las células neoplásicas crecen dentro de los senos simulando un carcinoma metastásico. Las células neoplásicas exhiben las mismas características citológicas semejantes, en ocasiones incluyen células más grandes y más pleomórficas con un núcleo multilobulado⁽⁴⁴⁾. No se reconocen las variantes morfológicas descritas en el ALK(+).

El *inmunofenotipo* se define por una expresión fuerte y homogénea de CD30. La falta de expresión de antígeno T relacionado con el CD3, se expresa con más frecuencia, CD2 (45%) y CD3 (68%), con frecuencia el CD5 se pierde y generalmente expresa CD4(51). A pesar del fenotipo T Helper se hallan marcadores citotóxicos como TIA-1, granzima B y perforina, con la excepción de los casos con reordenamiento de DUSP22^(36,44).

La expresión de EMA es más variable en comparación con ALCL-ALK(+), donde la mayoría de los casos son positivos⁽⁸⁾. Deben incluirse en el panel anticuerpos tales como PAX-5 y CD15 útiles para realizar un diagnóstico diferencial con CHL. PAX-5 suele ser débilmente positivo en células RS y negativo en ALCL-ALK(-)^(21,45a,46).

Las *alteraciones genéticas* que comienzan a deve-

larse con las nuevas tecnologías de secuenciación han ayudado a identificar nuevas alteraciones genéticas, y mutaciones en ALCL-ALK(-) y posibles dianas terapéuticas. La activación constitutiva de la vía de señalización de JAK-STAT como característica patogénica central se comparte con ALCL-ALK(+). Se han descrito dos nuevos reordenamientos cromosómicos distintivos en ALCL-ALK(-) que promueven su oncogénesis. El primero involucra el locus DUSP22-IRF4 (6p25.3), que está presente en el 30% de los casos; el segundo reordenamiento con TP63 (3q28), un homólogo de TP53, observado en el 8% de los casos^(47,48). DUSP22-IRF4 se reordena frecuentemente con el sitio frágil (FRA7H) en 7q32.3, lo que resulta en una proteína de fusión, DUSP22-FRA7H⁽⁴⁷⁾. Es importante resaltar la asociación de reordenamientos DUSP22 con un resultado favorable en similar a ALCL-ALK(+). En contraste, los reordenamientos de TP63 a menudo se asocian con un resultado deficiente. Los reordenamientos de TP63 conducen a una proteína de fusión, que inhibe la vía de p53^(44,47).

De acuerdo con la presencia o ausencia de las anomalías citogenéticas mencionadas anteriormente, se han caracterizado tres subgrupos diferentes de ALCL-ALK(-): ALCL con rearrreglo DUSP22, ALCL con rearrreglo TP63 y ALCL triple negativos que carecen de DUSP22, TP63 y ALK^(36,44).

Los grupos citogenéticos presentan características histológicas diferentes, los casos con reordenamiento DUSP22 muestran un patrón clásico con características relativamente monomórficas, células “*hallmark*” son más comunes y llamadas “*células donut*” frecuentes, con menor número de células pleomórficas grandes⁽⁴⁹⁾.

Los ALCL con reordenamiento de TP63 tienen un espectro morfológico más amplio que los ALCL reordenados DUSP22; sin embargo, con presencia de células características y sin células pleomórficas grandes^(47,50). Los casos con reordenamiento de DUSP22 suelen ser negativos para los marcadores citotóxicos y, a menudo, muestran doble negatividad para CD4 y CD8.

Si bien los reordenamientos DUSP22 y TP63 no son específicos para el ALCL sistémico, y pueden estar presentes en pC-ALCL y otros grupos de PTCL, la detección de estas translocaciones pueden ser útiles como factor predictivo de la enfermedad y pueden influir en las estrategias terapéuticas⁽⁴⁴⁾.

El perfil de expresión génica también ha identificado un nuevo subgrupo genético que expresa ERBB4, observado en el 24% de ALCL-ALK(-) sistémico. ERBB4 es un miembro de la familia de receptores de tirosina quinasa ERBB. Estos genes se han relacionado con la oncogénesis en los carcinomas y hoy son genes diana terapéuticos. La sobreexpresión aberrante de ERBB4 es una característica de ALCL-ALK(-), la cual podría tener potencial para terapias específicas^(45b). Los desequilibrios cromosómicos secundarios son más frecuentes en ALCL-ALK(-) que en ALCL-ALK(+), y ocurren en el 65% de los casos. Las ganancias de 1q y 6p21 y las pérdidas de 6q21 y 17p13 son características de ALCL-ALK(-), mientras que las ganancias de cromosoma 7p y 13q se observan tanto en ALK(+) como en ALCL-ALK(-)⁽³⁸⁾.

El *diagnóstico diferencial* principal de ALCL-ALK(-) es PTCL-NOS positivo para CD30. Pueden presentar características patológicas superpuestas. PTCL-NOS presenta una citología más variable, una expresión más heterogénea y usualmente más débil de CD30 y la positividad para CD3 se da en la mayoría de los mismos. No se halla expresión de EMA y marcadores citotóxicos en la mayoría de los PTCL-NOS^(8,51). Es importante destacar que el diagnóstico de ALCL-ALK(-) debe reservarse para los casos con hallazgos morfológicos e inmunofenotípicos que se parecen mucho al patrón clásico de ALCL-ALK(+)⁽¹⁾. Ante un LHC rico en células de RS puede ser de difícil diagnóstico diferencial y en estos casos la expresión de PAX5 es una herramienta útil para este diagnóstico diferencial⁽²¹⁾. Otra entidad que debe considerarse en el diagnóstico diferencial de ALCL es el grupo de DLBCL con expresión de CD30. En éstos, la morfología de aspecto centroblástico se hallará a pesar de poder entremezclarse células anaplásicas, la presencia de marcadores B asociados (CD20, CD79) en las células neoplásicas y la ausencia de ALK son cruciales para establecer el diagnóstico^(52,53).

Cuando ALCL-ALK(-) compromete en forma secundaria la piel debe distinguirse de los trastornos linfoproliferativos cutáneos primarios de células T CD30+, incluida la papulosis linfomatoide (LyP), pC-ALCL y las lesiones *borderline*. El diagnóstico diferencial entre estas entidades es difícil, y se requiere un enfoque integral que incluya características clínicas, histológicas e inmunofenotípicas para

resolver estos casos⁽⁵⁴⁾.

2.3. Linfoma cutáneo CD30+ (cALCL CD30+)

Este linfoma se compone de células grandes con citomorfología anaplásica, pleomórfica o inmunoblástica y expresión del antígeno CD30 en más del 75% de las células tumorales. No hay evidencia clínica o historia de LyP, MF u otro tipo de CTCL.

Afecta principalmente a adultos de 35 a 45 años, con una relación hombre-mujer de 2-3:1, aunque también puede ocurrir en la niñez, siendo una forma común de linfomas en los pacientes HIV positivos o en inmunosuprimidos trasplantados. La mayoría de los pacientes presentan un tumor o nódulos consistentes, solitarios o agrupados, que a menudo se ulceran y pueden alcanzar varios centímetros de diámetro. Las zonas predilectas son la cabeza, el cuello y los miembros, aunque pueden ubicarse en cualquier parte del cuerpo y comprometer una o varias zonas anatómicas diferentes. En el 20% de los casos la presentación puede ser multifocal. Las lesiones cutáneas pueden evolucionar con resolución parcial o total, hasta en el 44% de los pacientes. Estos linfomas recaen en la piel en el 39% de los casos. La diseminación extracutánea se ve en el 13% de los pacientes y suele afectar los ganglios linfáticos regionales.

Para hacer el diagnóstico clínico de PCALCL es recomendable que se cumplan los siguientes criterios⁽⁵⁵⁾. Lesiones nodulares solitarias, agrupadas, multifocales; ausencia de evidencia de LyP, MF u otro tipo de CTCL; ausencia de compromiso extracutáneo evaluado por procedimientos de estadificación.

Las *características morfológicas* son un infiltrado nodular dérmico denso, con compromiso hipodérmico frecuente, compuesto por células cohesivas grandes pleomórficas, anaplásicas o inmunoblásticas. El tipo citológico no influye en la evolución. Pueden verse, además, eosinófilos, neutrófilos y linfocitos reactivos adentro o alrededor de las células neoplásicas. Variantes infrecuentes son: patrón angiocéntrico, sarcomatoide, subcutáneo y variante de células pequeñas. El *inmunofenotipo* CD30+ en por lo menos el 75% de las células grandes. CD2+, CD4+, CD45-RO+, CD25+. CD3 se expresa en niveles más bajos que en otros CTCL. Menos del 5% son CD8+. Hay pérdida variable de CD2, CD5 o CD3. En la mitad de los casos se expresa al menos una proteína citotóxica, como TIA-1, granzima B y perforina⁽⁵⁶⁾. La mayoría

de los PCALCL CD30+ son de células T o nulas. Es central establecer el diagnóstico diferencial entre el linfoma anaplásico sistémico y el PCALCL CD30+ cutáneo primario debido al pronóstico y la terapéutica. A diferencia del linfoma anaplásico sistémico, el PCALCL CD30+ cutáneo primario es EMA-, ALK- (indicativa de translocación cromosómica específica t(2;5)), CD15- y ACL+. Variantes raras de PCALCL CD30+, pero de células B, se identifican en pacientes HIV+. Hay casos limítrofes entre LyP y PCALCL cutáneo primario en los cuales, a pesar de una correlación clínico-patológica cuidadosa, no puede hacerse una distinción definida a la hora del diagnóstico. En la mayoría de los casos, el diagnóstico definitivo se logra con la evolución de la enfermedad a través del seguimiento clínico.

Genética: reordenamiento del gen del TCR en la mayoría de los casos. La translocación (2;5) (p22;q35), característica de los ALCL sistémicos, es rara o falta en las formas cutáneas. Se informó sobre una variante de la t(2;5) en niños con PCALCL CD30+ cutáneo primario limitado a la piel y con muy buen pronóstico. El reordenamiento del locus IRF4/DUSP22 sobre 6p25.3 por FISH se detecta en el 28% de los casos, pero es un marcador específico (99%) para PCALCL CD30+ cutáneo primario⁽⁵⁷⁾.

Diagnóstico diferencial: debe plantearse con otros tipos de linfomas cutáneos que pueden expresar CD30⁽⁵⁸⁾:

- CTCL epidermotropos CD8+ con fenotipo citotóxico, el linfoma T de tipo paniculitis subcutánea, la reticulosis pagetoide y raros casos de MF.
- Compromiso cutáneo secundario de linfomas CD30+ sistémicos o de enfermedad de Hodgkin clásica.
- Linfomas B CD30+ (generalmente con EBV+ en inmunodeprimidos).
- En los pacientes con antecedentes de MF, considerar MF transformada o PCALCL asociado. La clínica, el inmunofenotipo y el pronóstico difieren en ambas entidades⁽⁵⁹⁾.

Pronóstico: en general favorable, con un 80-90% de supervivencia a los 5 años. Los pacientes con afectación de los ganglios regionales sin compromiso sistémico tienen similar pronóstico que aquéllos con lesiones cutáneas puras. No hay diferencia en la presentación clínica, el comportamiento o el pronóstico entre los pacientes con morfología anaplásica o no anaplásica (pleomórfica o inmunoblástica), o con diferentes

edades, sexo, origen étnico, tipo de lesión primaria ni respuesta inicial al tratamiento⁽⁶⁰⁾.

Es de destacar que los trastornos linfoproliferativos primarios de CD30+ cutáneos pueden implicar el drenaje regional de los ganglios linfáticos sin significar un ALK ALCL sistémico. Además, los casos con afectación de ganglios linfáticos regionales no tienen un peor pronóstico o supervivencia general.

2.4. Linfoma anaplásico de células grandes asociado a implantes mamarios (BI-ALCL)

El linfoma anaplásico de células grandes asociado a implantes mamarios (BI-ALCL) es una linfoproliferación CD30+, que recientemente se incorpora a la clasificación revisada de la OMS de 2016 como entidad provisional⁽¹⁾. Presenta hallazgos clínicos patológicos característicos y desde primer caso descrito por Keech and Creech en 1997, cuando observaron una asociación de ALCL con un implante mamario de solución salina⁽⁶¹⁾ se investiga mundialmente. En 2011, la Administración de Alimentos y Medicamentos anunció una posible asociación entre los implantes mamarios y el desarrollo de ALCL; desde entonces, se han notificado diferentes series, una de las cuales reporta 518 casos⁽⁶²⁾. Aunque muchos estudios han demostrado una posible relación entre este tipo de implantes mamarios y el linfoma, los estudios epidemiológicos grandes no pudieron demostrar un mayor riesgo de linfoma en pacientes con implantes mamarios, lo que indica que el riesgo absoluto es bajo⁽¹⁾. Todos los pacientes son mujeres diagnosticadas entre los 24 y los 82 años de edad con antecedentes de implantes mamarios, con antecedentes de seroma periprotésico crónico. Según la presentación clínica, se han reconocido dos subgrupos de esta entidad. El primer subgrupo es el más frecuente, presentándose clínicamente como un derrame alrededor del implante (también llamado seroma), mientras que el segundo subgrupo clínico se presenta con un tumor indolente palpable, que generalmente se limita a la mama, pero en ocasiones se puede asociar con afectación sistémica^(63-65,70). La mayoría de los pacientes con BI-ALCL, muestran un buen pronóstico; sin embargo, algunos pacientes pueden desarrollar una enfermedad recurrente asociada con un mal resultado y las razones de estos casos con mal pronóstico aún no están claras^(65,66).

Dada la baja frecuencia de esta entidad, para definir su patogenia, se requieren cohortes adicionales con

un seguimiento clínico más prolongado.

Características morfológicas

El primer subgrupo se presenta como un seroma alrededor del implante, derrame líquido que varía de 200 a 1000 ml, sin evidencia de tumor. La cápsula se halla engrosada con una capa irregular con material fibrinoide adyacente, pero los implantes generalmente están intactos y no se rompen. En este grupo donde la expresión patológica es sólo el seroma, la proliferación de las células neoplásicas se limita a la cápsula y al líquido de derrame, que representa un tipo de patrón *in situ*. Citológicamente, las células tumorales son grandes y pleomorfas, con abundante citoplasma pálido y núcleos vesiculosos. El fondo es polimórfico, formado por linfocitos pequeños, numerosos histiocitos y algunos granulocitos, en su mayoría eosinófilos^(64,67).

El segundo subgrupo de pacientes presenta una masa palpable con un espectro morfológico más amplio. Las células neoplásicas crecen de manera cohesiva dentro de un fondo inflamatorio fibrótico o crónico y muestran un aspecto multinodular con necrosis geográfica y esclerosis abundante (patrón infiltrativo). Las células tumorales son grandes, con abundante citoplasma y núcleos vesiculares multilobulados; raras veces se observa una morfología celular característica^(64,67).

Los hallazgos histopatológicos en esta entidad son muy característicos, pero el diagnóstico diferencial puede complicarse cuando predomina el infiltrado inflamatorio crónico constituido por linfocitos, histiocitos y eosinófilos, enmascara las células neoplásicas.

El *inmunofenotipo* de las células neoplásicas requiere la expresión de CD30 fuerte y uniformemente positivas y negativas para ALK^(64,65). Los antígenos asociados a las células T, como CD3, CD5 y CD7, suelen ser negativos, pero la expresión de CD4 está presente en la mayoría de los casos. CD8 es negativo, pudiendo observarse marcadores citotóxicos. La expresión de CD43, frecuentemente positivo en las células neoplásicas, puede ser una herramienta de valor. CD45 y BCL2 son frecuentemente positivos, así como IRF4 / MUM1^(63,64).

Estudios de biotipo, genéticos y moleculares. En la actualidad no sólo se propone a las prótesis como factor determinante, sino se postula al biofilm como otro factor posible a estudiar⁽⁶⁸⁾.

Las células tumorales BI-ALCL, al igual que sus

homólogos sistémicos, muestran tinción nuclear con fosfo-STAT3 (p-STAT3), lo que demuestra la activación constitutiva de STAT3 y su papel en la oncogénesis⁽⁶³⁾.

El *diagnóstico diferencial* se da con otros linfomas que pueden comprometer la mama tales como el PTCL con expresión de CD30 y más raramente el CHL. El historial de implante mamario, la morfología anaplásica y la expresión de CD30 son condiciones para el diagnóstico.

Es de vital importancia determinar el diagnóstico diferencial entre pC-ALCL y BI-ALCL y el ALCL-ALK(-) debido a sus diferentes comportamientos clínicos. Estas tres entidades comparten características morfológicas e inmunofenotípicas, y su distinción se basa con frecuencia en el escenario clínico⁽⁶⁹⁾.

3. Conclusiones

El ALCL abarca un espectro de linfomas de células fenotípicamente T maduras que tienen en común la citología anaplásica, la fuerte expresión de CD30 y la pérdida variable de marcadores de células T. Mas allá de este común denominador exhiben diferentes presentaciones clínicas, características moleculares y mecanismos oncogénicos. El descubrimiento de translocaciones ALK como propia dentro de los linfomas y su carácter oncogénico permitió definir el ALCL-ALK(+) como una entidad hace más de 20 años. El grupo segregado ALCL-ALK(-) ha sido sometido a estudios genéticos y moleculares que permiten ubicarlo como una entidad distinta y, a su vez, diferenciarlos de otros tipos de PTCL.

Siguiendo en el mismo espectro de diagnóstico, con los determinantes comunes, se describe e incorpora el BI-ALCL, como una nueva entidad provisional con características clínico-patológicas muy específicas asociadas con la inflamación crónica.

Las nuevas tecnologías permitirán delinear los diferentes mecanismos oncogénicos de estos linfomas con el fin de comprender mejor esta entidad con denominadores comunes y caras diferentes, abriendo al futuro las diferentes oportunidades terapéuticas.

Abreviaturas

ALCL	linfoma de grandes células anaplásicas
HM	histiocitosis maligna
RS	Reed Sternberg

HL	linfoma de Hodgkin
PTCL	linfoma del células T periféricas
OMS	clasificación de la Organización Mundial de la Salud
ALK	proteína quinasa del linfoma anaplásico
NPM1	nucleofosmina
ALCL-ALK (+)	ALCL sistémico ALK positivo
ALCL-ALK (-)	ALCL sistémico ALK negativo
PCALCL	ALCL primario cutáneo
BI-ALCL	ALCL asociado a implantes mamarios
PTCL-NOS	PTCL "no especificado"

Agradecimientos:

Dra. María Fernanda Metrebian. Dra. Silvia Vanzulli (Instituto de Investigaciones Hematológicas "Mariano Castex". Academia Nacional Medicina. Buenos Aires. Argentina)
 Dr. Mauro García Montenegro (Fundaleu. Buenos Aires. Argentina)
 Dr. Carlos A. Martin (La Plata, Provincia de Buenos Aires. Argentina)

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

Bibliografía

1. Swerdlow SHCE, Harris NL, Jaffe ES y col. WHO Classification of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues, 4th ed.; International Agency for Research on Cancer (IARC): Lyon, France, 2017; ISBN 978-92-832-4494-3.
2. Stein H, Mason DY, Gerdes J y col. The expression of the Hodgkin's disease associated antigen Ki-1 in reactive and neoplastic lymphoid tissue: Evidence that Reed-Sternberg cells and histiocytic malignancies are derived from activated lymphoid cells. *Blood*. 1985, 66, 848-858.
3. Stansfeld AG, Diebold J, Noel H y col. Updated Kiel classification for lymphomas. *Lancet*. 1988, 1, 292-293.
4. Harris NL, Jaffe ES, Stein H y col. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: A proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood*. 1994, 84, 1361-1392.
5. O'Connor NT, Stein H., Gatter K.C. y col. Genotypic analysis of large cell lymphomas which express the Ki-1 antigen. *Histopathology* 1987, 11, 733-740.
6. Morris S.W., Kirstein M.N., Valentine M.B. y col. Fusion of a kinase gene, ALK, to a nucleolar protein gene, NPM, in non-Hodgkin's lymphoma. *Science* 1994, 263, 1281-1284.
7. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. y col. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, 4th ed.; International Agency for Research on Cancer (IARC): Lyon, France, 2008; Volume 2, ISBN 978-92-832-2431-0.
8. Savage K.J., Harris N.L., Vose, J.M y col.. ALK-negative 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, 5496-5504.
9. Ten Berge RL, de Bruin PC, Oudejans JJ y col. ALK-negative anaplastic large-cell lymphoma demonstrates similar poor prognosis to peripheral T-cell lymphoma, unspecified. *Histopathology*. 2003, 43, 462-469.
10. Burkhardt B, Zimmermann M, Oschlies I y col. The impact of age and gender on biology, clinical features and treatment outcome of non-Hodgkin lymphoma in childhood and adolescence. *Br J Haematol*. 2005, 131, 39-49.
11. Falini B, Pileri S, Zinzani PL y col. ALK+ lymphoma: Clinico-pathological findings and outcome. *Blood*. 1999, 93, 2697-2706.
12. Kadin ME, Carpenter C. Systemic and primary cutaneous anaplastic large cell lymphomas. *Semin Hematol*. 2003, 40, 244-256.
13. Onciu M, Behm FG, Raimondi SC y col. ALK-positive anaplastic large cell lymphoma with leukemic peripheral blood involvement is a clinicopathologic entity with an unfavorable prognosis. Report of three cases and review of the literature. *Am J Clin Pathol*. 2003, 120, 617-625.
14. Spiegel A, Paillard C, Ducassou S y col. Paediatric anaplastic large cell lymphoma with leukaemic presentation in children: A report of nine French cases. *Br J Haematol*. 2014, 165, 545-551.
15. Benharroch D, Meguerian-Bedoyan Z, Lamant L y

- col. ALK-positive lymphoma: A single disease with a broad spectrum of morphology. *Blood*. 1998, 91, 2076-2084.
16. Falini B, Bigerna B, Fizzotti M y col. ALK expression defines a distinct group of T/null lymphomas ("ALK lymphomas") with a wide morphological spectrum. *Am J Pathol*. 1998, 153, 875-886.
17. Jaffe ES. Anaplastic large cell lymphoma: The shifting sands of diagnostic hematopathology. *Mod Pathol*. 2001, 14, 219-228.
18. Kinney MC, Collins RD, Greer JP y col. A small-cell-predominant variant of primary Ki-1 (CD30)+ T-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol*. 1993, 17, 859-868.
19. Pileri S, Falini B, Delsol G, Stein H, Baglioni P, Poggi S, Martelli MF, Rivano MT, Mason DY, Stansfeld AG. Lymphohistiocytic T-cell lymphoma (anaplastic large cell lymphoma CD30+/Ki-1 + with a high content of reactive histiocytes). *Histopathology*. 1990;16:383-391.
20. Leoncini L, Del Vecchio MT, Kraft R y col. Hodgkin's disease and CD30-positive anaplastic large cell lymphomas—A continuous spectrum of malignant disorders. A quantitative morphometric and immunohistologic study. *Am J Pathol*. 1990, 137, 1047-1057.
21. Vassallo J, Lamant L, Brugieres L y col. ALK-positive anaplastic large cell lymphoma mimicking nodular sclerosis Hodgkin's lymphoma: Report of 10 cases. *Am J. Surg Pathol*. 2006, 30, 223-229.
22. Gruss HJ, Dower SK. Tumor necrosis factor ligand superfamily: Involvement in the pathology of malignant lymphomas. *Blood*. 1995, 85, 3378-3404.
23. Andreesen R, Osterholz J, Lohr GW y col. A Hodgkin cell-specific antigen is expressed on a subset of auto- and alloactivated T (helper) lymphoblasts. *Blood*. 1984, 63, 1299-1302.
24. Chiarle R, Podda A, Prolla G y col. CD30 in normal and neoplastic cells. *Clin Immunol*. 1999, 90, 157-164.
25. Went P, Agostinelli C, Gallamini A y col. Marker expression in peripheral T-cell lymphoma: A proposed clinical-pathologic prognostic score. *J Clin Oncol*. 2006, 24, 2472-2479.
26. Latza U, Foss HD, Durkop H y col. CD30 antigen in embryonal carcinoma and embryogenesis and release of the soluble molecule. *Am J Pathol*. 1995, 146, 463-471.
27. Durkop H, Foss HD, Eitelbach F, Anagnostopoulos I, Latza U, Pileri S, Stein H. Expression of the CD30 antigen in non-lymphoid tissues and cells. *J Pathol*. 2000, 190, 613-618.
28. Stein H, Foss HD, Durkop H y col. CD30(+) anaplastic large cell lymphoma: A review of its histopathologic, genetic, and clinical features. *Blood*. 2000, 96, 3681-3695.
29. Pulford K, Lamant L, Morris SW, Butler LH, Wood KM, Stroud D, Delsol G, Mason DY. Detection of anaplastic lymphoma kinase (ALK) and nucleolar protein nucleophosmin (NPM)-ALK proteins in normal and neoplastic cells with the monoclonal antibody ALK1. *Blood*. 1997;89:1394-1404.
30. Pulford K, Lamant L, Espinos E y col. The emerging normal and disease-related roles of anaplastic lymphoma kinase. *Cell Mo. Life Sci*. 2004, 61, 2939-2953.
31. Pulford K, Morris SW, Turturro F. Anaplastic lymphoma kinase proteins in growth control and cancer. *J Cell Physiol*. 2004, 199, 330-358.
32. Zamo A, Chiarle R, Piva R, Howes J, Fan Y, Chilossi M, Levy DE, Inghirami G. Anaplastic lymphoma kinase (ALK) activates Stat3 and protects hematopoietic cells from cell death. *Oncogene*. 2002;21:1038-1047.
33. Werner MT, Zhao C, Zhang Q, Wasik MA. Nucleophosmin-anaplastic lymphoma kinase: The ultimate oncogene and therapeutic target. *Blood*. 2017;129:823-831. doi: 10.1182/blood-2016-05-717793.
34. Weilemann A, Grau M, Erdmann T y col. Essential role of IRF4 and MYC signaling for survival of anaplastic large cell lymphoma. *Blood*. 2015, 125, 124-132.
35. Bandini C, Pupuleku A, Spaccarotella E y col. IRF4 Mediates the Oncogenic Effects of STAT3 in Anaplastic Large Cell Lymphomas. *Cancers (Basel)*. 2018, 10, 21.
36. Montes-Mojarro I, Steinhilber J, Bonzheim I y col. The Pathological Spectrum of Systemic Anaplastic Large Cell Lymphoma (ALCL). *Cancers (Basel)*. 2018 Apr; 10(4): 107.
37. Lollies A, Hartmann S, Schneide, M y col. An oncogenic axis of STAT-mediated BATF3 upregulation causing MYC activity in classical Hodgkin lymphoma and anaplastic large cell lymphoma. *Leukemia*. 2018, 32, 92-101.
38. Salaverria I, Bea S, Lopez-Guillermo A. y col. Genomic profiling reveals different genetic aberrations in systemic ALK-positive and ALK-negative anaplas-

- tic large cell lymphomas. *Br J Haematol.* 2008, 140, 516-526.
39. Falini B, Pileri S, Stein H y col. Variable expression of leucocyte-common (CD45) antigen in CD30 (Ki1)-positive anaplastic large-cell lymphoma: Implications for the differential diagnosis between lymphoid and nonlymphoid malignancies. *Hum Pathol.* 1990, 21, 624-629.
 40. Griffin CA, Hawkins AL, Dvorak C. y col. Recurrent involvement of 2p23 in inflammatory myofibroblastic tumors. *Cancer Res.* 1999, 59, 2776-2780.
 41. Marino-Enriquez A, DalCin P. ALK as a paradigm of oncogenic promiscuity: Different mechanisms of activation and different fusion partners drive tumors of different lineages. *Cancer Genet.* 2013, 206, 357-373.
 42. Delsol G, Lamant L, Mariame B y col. A new subtype of large B-cell lymphoma expressing the ALK kinase and lacking the 2; 5 translocation. *Blood.* 1997, 89, 1483-1490.
 43. Chan JK, Lamant L, Algar E y col. ALK+ histiocytosis: A novel type of systemic histiocytic proliferative disorder of early infancy. *Blood.* 2008, 112, 2965-2968.
 44. Parrilla Castellar ER, Jaffe ES, Said JW y col. ALK-negative anaplastic large cell lymphoma is a genetically heterogeneous disease with widely disparate clinical outcomes. *Blood.* 2014, 124, 1473-1480.
 - 45 a. Desouki MM, Post GR, Cherry D y col. PAX5: Avaluable immunohistochemical marker in the differential diagnosis of lymphoid neoplasms. *Clin Med Res.* 2010, 8, 84-88.
 - 45 b. Scarfo I, Pellegrino E, Mereu E y col. Identification of a new subclass of ALK-negative ALCL expressing aberrant levels of ERBB4 transcripts. *Blood.* 2016, 127, 221-232.
 46. Arun I, Roy P, Arora N, Bhawe SJ, Nair R, Chandy M. PAX-5 Positivity in Anaplastic Lymphoma Kinase-Negative Anaplastic Large Cell Lymphoma: A Case Report and Review of Literature. *Int J Surg Pathol.* 2017;25:333-338.
 47. Feldman AL, Dogan A, Smith DI y col. Discovery of recurrent t(6;7)(p25.3;q32.3) translocations in ALK-negative anaplastic large cell lymphomas by massively parallel genomic sequencing. *Blood.* 2011, 117, 915-919.
 48. Vasmatazis G, Johnson SH, Knudson RA y col. Genome-wide analysis reveals recurrent structural abnormalities of TP63 and other p53-related genes in peripheral T-cell lymphomas. *Blood.* 2012, 120, 2280-2289.
 49. King RL, Dao LN, McPhail ED y col. Morphologic Features of ALK-negative Anaplastic Large Cell Lymphomas With DUSP22 Rearrangements. *Am J Surg Pathol.* 2016, 40, 36-43.
 50. Feldman AL, Law M, Remstein ED y col. Recurrent translocations involving the IRF4 oncogene locus in peripheral T-cell lymphomas. *Leukemia.* 2009, 23, 574-580.
 51. His ED, Said J, Macon WR y col. Diagnostic accuracy of a defined immunophenotypic and molecular genetic approach for peripheral T/NK-cell lymphomas. A North American PTCL study group project. *Am J Surg Pathol.* 2014, 38, 768-775.
 52. Hu S, Xu-Monette ZY, Balasubramanyam A y col. CD30 expression defines a novel subgroup of diffuse large B-cell lymphoma with favorable prognosis and distinct gene expression signature: A report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Blood.* 2013, 121, 2715-2724.
 53. Asano H, Imai Y, Ota S y col. CD30-positive anaplastic variant diffuse large B cell lymphoma: A rare case presented with cutaneous involvement. *Int J Hematol.* 2010, 92, 550-552.
 54. deLeval L, Gaulard P. CD30+ lymphoproliferative disorders. *Haematologica.* 2010;95,1627-1630.
 55. Hughey LC. Practical management of CD30+ lymphoproliferative disorders. *Dermatol Clin.* 2015;33:819-833.
 56. De Souza A, Tinguely M, Burghart DR y col. Characterization of the tumor microenvironment in primary cutaneous CD30-positive lymphoproliferative disorders: a predominance of CD163-positive M2 macrophages. *J Cutan Pathol.* 2016;43:579-588.
 57. Kempf W. A new era for cutaneous CD30-positive T-cell lymphoproliferative disorders. *Semin Diag Pathol.* 2017;34:22-35.
 58. Fauconneau A, Pham-Ledard A, Cappellen D et al. Assessment of diagnostic criteria between primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma and CD30-rich transformed mycosis fungoides; a study of 66 cases. *Br J Dermatol.* 2015;172:1547-1554. https://www.ccn.org/professionals/physician_gls/pdf/t-cell.pdf. V2.2018.
 59. Kadin ME, Hughey LC, Wood GS. Large-cell transformation of mycosis fungoides-differential diagnosis with implications for clinical management: a consensus statement of the US Cutaneous Lymphoma Consortium. *J Am Acad Dermatol.* 2014;70:374-376.

60. Kempf W, Kerl K, Mitteldorf C. Cutaneous CD30-positive T-cell lymphoproliferative disorders—clinical and histopathologic features, differential diagnosis, and treatment. *Semin Cutan Med Surg.* 2018 ;37:24-29.
61. Keech JAJr, Creech BJ. Anaplastic T-cell lymphoma in proximity to a saline-filled breast implant. *Plast Reconstr Surg.* 1997, 100, 554-555.
62. Jones JL, Hanby AM, Wells C y cols. National Co-ordinating Committee of Breast Pathology. Breast Implant Associated Anaplastic Large Cell Lymphoma (BIA-ALCL): an overview of Presentation and Pathogenesis and Guidelines for Pathological Diagnosis and Management. *Histopathology.* 2019 Jun 5. doi: 10.1111/his.13932. (Epub ahead of print).
63. Laurent C, Delas A, Gaulard P y col. Breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma: Two distinct clinicopathological variants with different outcomes. *Ann Oncol.* 2016, 27, 306-314.
64. Aladily TN, Medeiros LJ, Amin MB y col. Anaplastic large cell lymphoma associated with breast implants: A report of 13 cases. *Am J Surg Pathol.* 2012, 36, 1000-1008.
65. Aladily TN, Medeiros LJ, Alayed K, Miranda RN. Breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma: A newly recognized entity that needs further refinement of its definition. *Leuk Lymphoma.* 2012, 53, 749-750.
66. Ye X, Shokrollahi, Rozen WM y col. Anaplastic large cell lymphoma (ALCL) and breast implants: Breaking down the evidence. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2014, 762, 123-132.
67. Miranda RN, Lin L, Talwalkar SS y col. Anaplastic large cell lymphoma involving the breast: A clinicopathologic study of 6 cases and review of the literature. *Arch Pathol Lab Med.* 2009, 133, 1383-1390.
68. Hu H, Johani, K, Almatroudi A y col. Bacterial Bio-film Infection Detected in Breast Implant-Associated Anaplastic Large-Cell Lymphoma. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 2016 June;137(6):1659-1669.
69. Xu J, Wei S. Breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma: Review of a distinct clinicopathologic entity. *Arch Pathol Lab Med.* 2014, 138, 842-846.
70. Tannuri K, Pavlosky M, Sociedad Argentina de Hematología (Subcomisión de Linfomas), Colombo M (Sociedad Argentina de Cirugía Plástica), Narbaitz M (Sociedad Argentina de Patología). Primer reporte Argentino de linfoma a grandes células anaplásico asociado a implantes mamarios. XXIV Congreso Argentino de Hematología. 2 al 5 de octubre de 2019. Mendoza. Argentina.



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.

Anticoagulantes orales directos (DOACs) en profilaxis y tratamiento de trombosis asociada a cáncer (TAC)

DOACs in cancer associated thrombosis (CAT) prophylaxis and treatment

Korin J

*Consultorios de Estudios Hematológicos. Sanatorio de los Arcos. Buenos Aires.
Argentina.*

jkorin2009@hotmail.com



**SIMPOSIO SAH/CAHT.
A LA LUZ DE LA
NUEVA EVIDENCIA:
¿HAY QUE CAMBIAR
LA CONDUCTA
ANTI-TROMBÓTICA?**

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Número Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 311-315
Octubre 2019

Palabras claves: anticoagulantes orales directos,
trombosis asociada a cáncer,
profilaxis y tratamiento.

Keywords: direct oral anticoagulants,
cancer associated thrombosis,
prophylaxis and therapy

En las series de pacientes con tromboembolismo venoso (TEV) una neoplasia se asocia en el 20-25%. Inversamente, el TEV complica hasta el 20% de los pacientes con cáncer, constituyendo, con las infecciones, la 2° causa de mortalidad, provocando necesidad de hospitalización, agregando morbilidad -el riesgo de recurrencia es tres veces mayor y el de hemorragia seis veces mayor que en los individuos con TEV sin neoplasia-, retraso en los tratamientos oncológicos, aumento de costos y de utilización de recursos sanitarios.

Hay diversos factores de riesgo para desarrollar TEV en pacientes neoplásicos y pueden agruparse en:

1) Factores asociados al paciente, como edad avanzada, TEV previo y comorbilidades;

2) Factores asociados a la neoplasia, tales como sitio de origen e histología, (adenocarcinomas de páncreas, pulmón y glioblastomas son los más frecuentes) estadio metastásico vs tumores localizados, etapa inicial del diagnóstico y empleo de quimioterapia adyuvante en primera línea, presencia de masas voluminosas que comprimen o infiltran grandes troncos venosos;

3) Factores asociados al tratamiento, que incluyen necesidad de hospitalización con escasa movilización, quimioterapias con platino o inmunomoduladores, agentes anti-angiogénicos, estimulantes de eritropoyesis, necesidad de soporte transfusional o de cirugías extensas.

Los mecanismos moleculares involucrados en la producción de un estado hipercoagulable son hete-

rogéneos y muy dependientes de la estirpe neoplásica y de su capacidad de interacción con células del huésped, en especial activando plaquetas y el sistema de coagulación. Entre ellos se han descrito: factor tisular, hipoxia, ADP de célula neoplásica, p-selectina, PAI-1, CLEC-2/podoplanina, micropartículas tumorales, plaquetarias, monocíticas, endoteliales, netosis y cisteína-proteasa activadora de FX.

Esta diversidad de factores de riesgo y mecanismos ha producido dificultad en la comunidad médica oncológica para consensuar la conveniencia de realizar profilaxis de TEV, sólo aceptada actualmente en las Guías para los pacientes con neoplasia activa hospitalizados y para los enfermos ambulatorios con mieloma múltiple tratados con inmunomoduladores.

El índice de riesgo más empleado desde su descripción en 2008, ha sido el propuesto por Alex Khorana, con puntaje de hasta 7 para sitios tumorales de muy alto y alto riesgo, trombocitosis, leucocitosis, anemia o empleo de eritropoyetina y obesidad. El índice ha sido validado y se acepta que un puntaje de 3 o mayor correlaciona con un riesgo de 11% de TAC a 6 meses. Sin embargo sólo 1 de cada 4 episodios de TEV ocurre en pacientes con ese puntaje. En los últimos años se ha descrito fallo en la capacidad predictiva de TEV del índice en neoplasias de diversa histología: tumores de células germinales, carcinoma metastásico de urotelio, linfoma B difuso de células grandes, adenocarcinoma de páncreas, cáncer de pulmón y carcinoma hepatocelular. Sus principales falencias son la falta de consideración del grado de extensión tumoral local o a distancia y el no jerarquizar el tipo de tratamiento oncológico a realizar. Al menos 6 índices más han sido propuestos para afinar el pronóstico de desarrollar TEV mediante mediciones de dímeros D o p-selectina, la utilización de esquemas con gemcitabina-platino, la presencia de metástasis o compresión venosa o antecedentes de TEV, la consideración de trombofilias genéticas, etc. Lo cierto es que ninguno de ellos predice más certeramente el paciente neoplásico con más riesgo de TEV y en el que valdría la pena indicar profilaxis farmacológica al iniciar quimioterapia, aunque se realice en forma ambulatoria.

Si se realiza profilaxis sin considerar la magnitud de riesgo trombótico, dos estudios empleando HBPM han demostrado reducciones de TEV, respecto del placebo, del 3.9% a 2% y del 3.4% a 1.2%. Aunque

la profilaxis sea efectiva, el bajo número de TEV en poblaciones sin alto riesgo produce un NNT del orden de 53 y 46 respectivamente, que habla de la poca utilidad clínica de este abordaje del problema. Los oncólogos no han aceptado esta forma indiscriminada de indicación de profilaxis.

Profilaxis de TAC

¿Cuál es el aporte de los DOACs para profilaxis de TAC?

Dos estudios se han publicado en 2019, empleando rivaroxabán (CASSINI) y apixabán (AVERT)

En ambos se han incluido pacientes neoplásicos con índice de Khorana de 2 o más. Esto correlaciona con un riesgo de TAC de 9% a 6 meses y abarca a la mitad de todos los episodios de TEV.

En CASSINI se empleó rivaroxabán 10 mg diarios (n: 420) o placebo (n: 421). Se hizo un tamizado inicial de los pacientes con un ultrasonido con compresión para evitar incluir quienes ya tenían TEV. Esto provocó el descarte de 20% de los enfermos. Asimismo se excluyeron aquéllos con expectativa de vida menor a 6 meses y los que padecían tumores primitivos o metastásicos en SNC. Se repitió el estudio de imágenes cada 2 meses y se incluyeron episodios asintomáticos y sintomáticos de TEV y trombosis arteriales. El período de seguimiento fue 6 meses. Casi 80% de los tumores provenían de páncreas, región esófago-gástrica y pulmón. La tasa de discontinuación fue alta (44% en el grupo rivaroxabán y 50% en el grupo placebo) lo que demuestra la dificultad para adherencia a profilaxis en estos pacientes.

Resultados: Trombosis con placebo 8.8%, con rivaroxabán 5.9%. HR 0.66 p=0.1, pero 39% de los eventos ocurrieron al discontinuar el estudio.

En población en tratamiento, la trombosis con placebo fue 6.4% y con rivaroxabán 2.6%. HR 0.40. p= 0.007.

Incluyendo trombosis arteriales y viscerales, la incidencia con placebo fue 10.7% y con rivaroxabán 6.9% y HR 0.62. p=0.04.

El sangrado mayor con placebo fue 1% y con rivaroxabán 2%. HR 1.96. p= 0.26.

De los 8 eventos con rivaroxabán, 6 fueron sangrado gastrointestinal. Uno fatal.

NNT: punto primario de eficacia: 35. En población en tratamiento: 26. Incluyendo eventos arteriales: 17.

NNH para sangrado mayor: 101.

En AVERT, no hubo ultrasonido pre-randomización ni controles predefinidos de imágenes durante los 6 meses de seguimiento y se randomizaron 288 pacientes con apixabán 2.5 mg cada 12 hs y 275 con placebo. La tasa de discontinuación también fue alta (45%). La distribución de neoplasias fue diferente a la habitual y a la del CASSINI: 26% linfomas, 25% tumores ginecológicos, 13% páncreas y 11% pulmón entre los más frecuentes. Se incluyeron gliomas, aunque sólo constituyeron un 5% del total. El punto primario de eficacia fue TEV sintomático exclusivamente.

Resultados. Trombosis con placebo 10.2%, con apixabán 4.2% HR 0.41. $p < 0.001$.

En población en tratamiento, la trombosis con placebo fue 7.3% y con apixabán 1.0%. HR 0.14.

El sangrado mayor con placebo fue 1.8% y con apixabán 3.5%. HR 2.0. $p = 0.04$.

NNT: 17, dado sobre todo por disminución de TEP (1.7% vs 5.8%).

NNH para sangrado mayor en tratamiento: 100.

En conclusión, en CASSINI hubo menor incidencia de TEV sintomático o no con rivaroxabán durante el tratamiento, pero al suspender la medicación aumentó significativamente su número. No hubo incremento significativo del sangrado mayor. En AVERT, considerando eventos sintomáticos exclusivamente, hubo menor TEV con apixabán pero con el doble de sangrado mayor.

Si se agrupan ambos en conjunto, el NNT para TEV sintomático durante tratamiento fue 40 y el NNH para sangrado mayor fue 77.

Dado que ambos estudios eligieron pacientes con índice de Khorana 2 o $>$, cabe preguntarse si ése es el criterio más apropiado para aumentar la eficacia clínica de los DOAC ya que el NNT de 40 es bastante similar al de las HBPM en poblaciones no seleccionadas.

Tratamiento de TAC

¿Son útiles los DOACs?

En cuanto a tratamiento del TEV ya establecido, hasta el advenimiento de los DOACs, las Guías recomendaban 3 a 6 meses de heparinas de bajo PM (HBPM) seguidos de una conducta individualizada en cuanto a la conveniencia de continuar la terapéutica si el cáncer seguía activo. Sin embargo, los registros mostraron que en la práctica diaria en USA,

sólo el 40% de los pacientes recibían inicialmente HBPM y que sólo el 30% de ellos continuaban con las inyecciones SC luego del tercer mes de tratamiento.

Se han publicado tres estudios empleando DOACs versus dalteparina.

HOKUSAI-VTE Cancer es un estudio de no inferioridad comparando dalteparina 200 UI/kg por 1 mes seguida de 150 UI/kg (n: 525) versus 5 días de HBPM seguidos por edoxabán 60 mg diarios (n: 525). El punto final primario fue un compuesto de TEV sintomático, incidental o muerte por TEP o sangrado mayor. Pacientes con < 60 kg o depuración de creatinina entre 30 y 60 ml/min o que usaran inhibidores de glicoproteína P recibieron edoxabán 30 mg/día. Evento primario de eficacia compuesto de recurrencia de TEV o sangrado mayor.

Resultados. Rama dalteparina 13.5% y rama edoxabán 12.8% de eventos primarios. HR 0.97. $p = 0.006$ para no inferioridad. Desglosando el punto primario compuesto, la recurrencia de TEV fue 7.9% con edoxabán y 11.3% con dalteparina. El sangrado mayor, significativamente más alto con edoxabán 6.9% versus 4.0% con dalteparina. El exceso de sangrado se vio en neoplasias gastrointestinales altas con o sin persistencia del tumor o con mucositis.

Una diferencia entre las dos ramas fue la conducta frente a la trombocitopenia. En los pacientes con edoxabán no hubo ajuste de dosis con plaquetas entre 50 y 100000/ul (6.1%) mientras que en los que recibieron dalteparina se redujo la dosis de la HBPM con recuentos menores a 100000 plaquetas (4.4%). El edoxabán permitiría menor monitoreo de las cifras plaquetarias en pacientes en quimioterapia y mantener la dosis en pacientes con trombocitopenia leve.

SELECT-D es un estudio piloto con rivaroxabán a las dosis habituales de 15 mg 2 x día por 21 días y luego 20 mg diarios (n: 203) contra dalteparina a las mismas dosis del estudio anterior (n: 203). Los resultados arrojaron una recurrencia menor con rivaroxabán (4% versus 11%), similar sangrado mayor (6% contra 4%), y aumento de sangrado no mayor clínicamente relevante (13% contra 4%). También aquí se observó mayor sangrado en tumores gastrointestinales altos y en pacientes oncológicos del tracto urinario.

ADAM-VTE es el tercer estudio y sus resultados preliminares fueron presentados en ASH 2018. Se

comparó la evolución del tratamiento con apixabán (n: 142) a las dosis habituales de 10 mg cada 12 hs la primera semana y 5 mg cada 12 hs en el seguimiento versus dalteparina a las dosis de los estudios previos. El evento primario fue sangrado mayor (0% para el DOAC y 2.1% para dalteparina, la suma de sangrado mayor y no mayor pero clínicamente relevante fue similar en ambas ramas (9%) y las recurrencias fueron 74% menores con apixabán (3.4% versus 14.1%). Las cifras diferentes de sangrado mayor en la rama del comparador hablan de una diferencia en la población estudiada.

Un meta-análisis presentado en el reciente Congreso de ISTH 2019 incluye estos tres trabajos más los pacientes neoplásicos que recibieron DOACs en los trabajos pivotaes con rivaroxabán, dabigatrán, apixabán y edoxabán (en estos últimos los pacientes eran de mejor pronóstico y el comparador era HBPM seguida de dicumarínicos). La disminución de riesgo de recurrencia (n: 1734) fue de 39% con DOAC con una tendencia a mayor sangrado sólo

7% mayor que con los comparadores.

Mientras se esperan datos nuevos aportados por varios estudios en marcha, puede proponerse que los DOACs son preferibles en pacientes neoplásicos con riesgo estándar de sangrado, sin tumores gastrointestinales altos ni riesgo de hematuria por tumores urológicos. Debe tenerse en cuenta que, por su metabolismo hepático, son parcialmente sustratos de CYP3A4 y tienen interacciones con drogas empleadas en pacientes oncológicos o con trasplante de médula ósea. Así, por ejemplo, disminuyen su efecto anticoagulante la dexametasona, la doxorubicina y la vinblastina, mientras aumentan el mismo los azólicos, el tamoxifeno, los inhibidores de tirosina-quinasa, la ciclosporina y el tacrolimus.

Probablemente la mayor ventaja que ofrezcan los DOACs en este campo sea la adherencia al evitar inyecciones SC por tiempos prolongados, y de esta manera mejorar las recurrencias. Como en otras áreas de nuestra especialidad resultará críticamente importante su cobertura de los servicios y seguros de salud para poder emplearlos por tiempos prolongados en tanto haya actividad de la neoplasia.

Conflictos de interés:

El Dr Jorge Korin declara haber recibido honorarios por parte de Laboratorios Bayer y Boehringer Ingelheim por concepto de conferencias y actividades educativas en las que ha participado.

Bibliografía

1. Khorana AA, Kuderer NM, Culakova E et al. Development and validation of a predictive model for chemotherapy-associated thrombosis. *Blood*. 2008; 111(10): 4902-4907.
2. Farge D, Bounameaux H, Brenner B et al. International clinical practice guidelines including guidance for direct oral anticoagulants in the treatment and prophylaxis of venous thromboembolism in patients with cancer. *Lancet Oncol*. 2016; 17(10): e452-e466.
3. Kearon C, Akl EA, Ornelas J et al. Antithrombotic therapy for VTE disease: CHEST guideline and expert panel report. *Chest*. 2016; 149(2): 315-352.
4. Khorana AA, Noble S, Lee AYY et al. Role of direct oral anticoagulants in the treatment of cancer-associated venous thromboembolism: guidance from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2018; 16(9): 1891-1894.
5. Khorana AA, McCrae KR, Milentijevic D et al. Current practice patterns and patient persistence with anticoagulant treatments for cancer associated thrombosis. *Res Pract Thromb Haemost*. 2017; 1(1): 14-22.
6. Prins MH, Lensing AW, Brighton TA et al. Oral rivaroxaban versus enoxaparin with vitamin K antagonist for the treatment of symptomatic venous thromboembolism in patients with cancer (EINSTEIN-DVT and EINSTEIN-PE): a pooled subgroup analysis of two randomised controlled trials. *Lancet Haematol*. 2014; 1(1): e37-e46.
7. Agnelli G, Buller HR, Cohen A et al. Oral apixaban for the treatment of venous thromboembolism in cancer patients: results from the AMPLIFY trial. *J Thromb Haemost*. 2015; 13(12): 2187-2191.
8. Raskob GE, van Es N, Segers A et al. Edoxaban for

- venous thromboembolism in patients with cancer: results from a non-inferiority subgroup analysis of the Hokusai-VTE randomised, double-blind, doubledummy trial. *Lancet Haematol*. 2016; 3(8): e379-e387.
9. Li A, Garcia DA, Lyman GH, Carrier M. Direct oral anticoagulant (DOAC) versus low-molecular-weight heparin (LMWH) for treatment of cancer associated thrombosis (CAT): a systematic review and metaanalysis. *Thromb Res*. 2019; 173: 158-163.
 10. Carrier M, Abou-Nassar K, Mallick R et al. Apixaban to prevent venous thromboembolism in patients with cancer. *N Engl J Med*. 2019; 380(8): 711-719.
 11. Khorana AA, Soff GA, Kakkar AK et al. Rivaroxaban for thromboprophylaxis in high-risk ambulatory patients with cancer. *N Engl J Med*. 2019; 380(8): 720-728.
 12. Raskob GE, van Es N, Verhamme P et al. Edoxaban for the treatment of cancer-associated venous thromboembolism. *N Engl J Med*. 2018; 378(7): 615-624.
 13. Young AM, Marshall A, Thirlwall J et al. Comparison of an oral factor Xa inhibitor with low molecular weight heparin in patients with cancer with venous thromboembolism: results of a randomized trial (SELECT-D). *JCO*. 2018; 36(20): 2017-2023.
 14. McBane RD, Wysokinski WE, Le-Rademacher J et al. Apixaban, dalteparin, in active cancer associated venous thromboembolism, the ADAM VTE trial. *Blood*. 2018; 132: 421.
 15. Riess H, Prandoni P, Harder S et al. Direct oral anticoagulants for the treatment of venous thromboembolism in cancer patients: potential for drug-drug interactions. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2018; 132: 169-179.
 16. Ay C, Beyer Westendorf J, Pabinger I. Treatment of cancer -associated venous thromboembolism in the age of direct oral anticoagulants. *Ann Oncology*. 2019; 30: 897-907
 17. Elalamy I, Mahe I, Ageno W, Meyer G. Long-term treatment of cancer associated thrombosis: the choice of the optimal anticoagulant. *J Thromb Haemost*. 2017; 15(5): 848-857.



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

Profilaxis en embarazo: la guía de la American Society of Hematology 2018 ¿modifica nuestra conducta?

Thromboprophylaxis in pregnancy: does the American Society of Hematology 2018 guide modify our medical practice?

Molnar S

Clínica Universitaria Reina Fabiola, Córdoba

soledadmolnar@gmail.com



**SIMPOSIO SAH/CAHT.
A LA LUZ DE LA
NUEVA EVIDENCIA:
¿HAY QUE CAMBIAR
LA CONDUCTA
ANTI-TROMBÓTICA?**

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 316-319
Octubre 2019

Palabras claves: tromboprofilaxis,
embarazo,
trombofilia.

Keywords: thromboprophylaxis,
pregnancy,
thrombophilia.

La asociación entre embarazo y tromboembolismo venoso ha sido reportada en las últimas décadas. Las mujeres embarazadas tienen de cuatro a cinco veces más riesgo de sufrir un evento tromboembólico que mujeres de la misma edad no embarazadas. Este riesgo se incrementa levemente en el tercer trimestre, y entre 10 a 60 veces en el pos parto (principalmente en las primeras seis semanas pos nacimiento)⁽¹⁾.

En la mayoría de los casos se presentan como trombosis venosa profunda de miembros inferiores (80%) y, menos frecuentemente, como tromboembolismo pulmonar (20%). El tromboembolismo pulmonar es una de las causas principales de mortalidad materna en países desarrollados⁽¹⁾.

A pesar del riesgo incrementado de trombosis, no todas las mujeres embarazadas son candidatas a re-

cibir tromboprofilaxis.

El riesgo varía acorde a los antecedentes personales de la paciente (tromboembolismo venoso previo o historia familiar de primer grado de trombosis), antecedentes hereditarios (trombofilia con o sin historia familiar de trombosis), antecedentes personales (cardiopatía, obesidad, tabaquismo, edad >35 años, entre otros); y factores relacionados al embarazo y puerperio per se (inmovilidad, preeclampsia, cesárea, hemorragia pos parto, entre otros).

El objetivo de esta presentación es revisar la evidencia acerca del grupo de pacientes que se benefician y tienen indicación de tromboprofilaxis en el embarazo y/o puerperio.

En la última publicación de las guías de la *American Society of Hematology*⁽²⁾ (ASH) 2018, hay cuatro situaciones a considerar:

- 1- historia de tromboembolismo venoso previo
- 2- trombofilia hereditaria
- 4- factores clínicos de la paciente
- 4- dosis de enoxaparina utilizada para la tromboprofilaxis

Es importante mencionar que la mayoría de las recomendaciones en la guía son "condicionales" y con niveles de evidencia baja (es decir, futuras investigaciones podrían tener un impacto y cambiar la conducta).

1- Historia de tromboembolismo venoso previo

El antecedente de tromboembolismo previo incrementa un 4.2% de riesgo de presentar nuevo evento durante el embarazo⁽¹⁾.

Este riesgo varía acorde al contexto donde la paciente presentó la trombosis⁽²⁾:

- tromboembolismo venoso previo asociado a hormonas (anticonceptivos o embarazo previo): 6.4%.
- tromboembolismo venoso no provocado: 3.6%.
- tromboembolismo venoso provocado por un factor de riesgo transitorio, no hormonal (cirugía, trauma, inmovilización, entre otros): 1.1%.

Durante el puerperio el riesgo de recurrencia también está incrementado en alrededor del 6.5%, pero no hay datos bibliográficos disponibles de variación del riesgo de acuerdo a la situación en la que la paciente tuvo el evento (provocado o no provocado).

En la guías de ASH, el panel de expertos considera que un riesgo por encima del 2% en embarazo y de un 1% en puerperio, justifica utilizar enoxaparina a dosis profilácticas.

Con respecto a este punto la recomendación de ASH 2018 es la siguiente:

- *mujeres con antecedentes de tromboembolismo venoso previo no provocado o asociado a factor de riesgo hormonal: se recomienda profilaxis en embarazo y puerperio.*
- *mujeres con antecedentes de tromboembolismo venoso previo asociado a factor de riesgo transitorio, no hormonal: se sugiere no utilizar profilaxis en embarazo, y sí utilizarla en el puerperio.*

2- Trombofilia

La trombofilia hereditaria se asocia a incremento de trombosis venosa en pacientes embarazadas. Sin embargo, el riesgo varía acorde al tipo de trombofilia, y si el paciente presenta historia familiar de trombosis o no^(3,4).

Cuando hablamos de trombofilia hereditaria nos referimos a las siguientes: factor V Leiden, protrombina 20210, deficiencia de anticoagulantes naturales: proteína C, proteína S, antitrombina III.

El incremento de estudios de trombofilias en pacientes asintomáticas o sin historia familiar genera un dilema para el médico hematólogo y deriva en un "sobre tratamiento", muchas veces innecesario.

La falta de estudios bien diseñados en esta población hace difícil establecer recomendaciones basadas en la evidencia, y se refleja en la falta de acuerdo entre las diferentes sociedades en este tema⁽⁵⁻⁷⁾.

• *Factor V Leiden y protrombina 20210 heterocigotas.* Son de las trombofilias hereditarias más prevalentes en nuestra población. El riesgo de trombosis en estas pacientes es alrededor del 1 al 3% según haya o no historia familiar de trombosis. Hay discrepancia entre las diferentes guías acerca de si hay o no indicación de tromboprofilaxis^(2,5-7). Sin antecedentes familiares la mayoría acuerda en que no es necesario utilizar enoxaparina durante el embarazo. En puerperio las nuevas guías⁽²⁾ desaconsejan profilaxis aún en pacientes con historia familiar, lo cual no concuerda con recomendaciones previas.

• *Factor V Leiden homocigota.* En este subgrupo de pacientes el riesgo de trombosis es más alto, entre un 5 a 14% acorde a los antecedentes. Se recomienda en esta situación la tromboprofilaxis en embarazo y puerperio⁽²⁾.

• *Protrombina 20210 homocigota.* Hay escasa bibliografía acerca de pacientes homocigotos para esta mutación. Se extrapola que serían de alto riesgo similar aquéllos con FVL homocigota pero debido a la falta de evidencia bibliográfica las nuevas guías⁽²⁾ sugieren no hacer profilaxis en embarazo (sólo considerarla si hay historia familiar), pero sí en puerperio.

• *Deficiencia de proteínas C y S.* Se considera que el riesgo de trombosis es bajo. La sugerencia es no realizar profilaxis en embarazo. En puerperio utilizarla únicamente si hay historia familiar⁽²⁾.

• *Deficiencia de antitrombina III.* En pacientes sin historia familiar de trombosis se sugiere no hacer profilaxis en embarazo ni puerperio, lo cual es diferente de recomendaciones previas⁽⁵⁻⁷⁾. Las pacientes

con historia familiar de trombosis es el único grupo para el que se recomienda enoxaparina ante y pos parto.

Todas las recomendaciones son "condicionales" y con muy bajo grado de evidencia

3- Factores clínicos de las pacientes

Hay muchos factores clínicos descriptos que incrementan el riesgo de trombosis en embarazo y pos parto⁽⁴⁾.

Estos factores de riesgo pueden ser propios del paciente:

- edad mayor a 35 años
- tabaquismo
- obesidad
- diabetes
- hipertensión
- enfermedad cardíaca
- lupus eritematoso sistémico

O factores de riesgo asociados al embarazo:

- inmovilidad
- preeclampsia
- embarazo múltiple
- técnicas de reproducción asistida
- retraso del crecimiento intrauterino
- muerte fetal
- cesárea programada o de urgencia
- hemorragia pos parto

Es discutido si el tener varios factores es aditivo o multiplicativo en cuanto a riesgo de trombosis⁽²⁾. Es importante reevaluar a la paciente en el puerperio y ver si hay factores adicionales nuevos a la hora de considerar indicar profilaxis.

Con respecto a este punto la recomendación de ASH 2018 es la siguiente:

- mujeres con ninguno o un solo factor de riesgo clínico se sugiere no administrar profilaxis en embarazo ni en puerperio.

4- Dosis de enoxaparina

De las drogas para profilaxis en embarazo la heparina de bajo peso molecular (HBPM) es la droga de elección. Puede administrarse también la heparina

sódica no fraccionada.

Con respecto a otros fármacos como fondaparinux, antagonistas de la vitamina K o anticoagulantes orales directos, no están recomendados para prevención. De fondaparinux hay reportes de que cruza la placenta en pequeñas cantidades y su experiencia en embarazo es muy limitada. Los antagonistas de la vitamina K (acenocumarol, warfarina) no se consideran aceptables en profilaxis, ya que son drogas que atraviesan la placenta, son teratogénicas y pueden causar aborto y hemorragia en el feto. De igual manera los anticoagulantes orales directos, cruzan la placenta y pueden causar toxicidad.

Acerca de la dosis de HBPM en profilaxis hay grupos que reportan fallas con dosis preventivas (bajas: enoxaparina 40 mg/día)⁽⁸⁾ y proponen la utilización de dosis intermedias (enoxaparina 40 mg cada 12 hs o según peso)⁽⁹⁾.

El principal riesgo de la HBPM es la hemorragia. No está descripto aumento de la hemorragia pos parto con dosis bajas pero sí con dosis intermedias. Las dosis intermedias tienen el inconveniente también de menor acceso a analgesia y anestesia epidural⁽²⁾.

Con respecto a este punto la recomendación de ASH 2018 es la siguiente:

- Mujeres embarazadas que requieren profilaxis: se sugiere dosis bajas de HBPM ante parto, dosis bajas o intermedias pos parto.

Comentarios finales

El embarazo es un estado protrombótico y hay un número de mujeres que se benefician del tratamiento profiláctico en embarazo y/o puerperio.

Las guías tratan de establecer pautas asociadas a la evidencia pero es importante considerar:

- calidad de la evidencia
- grado de recomendación
- población hacia la cual están dirigidas las guías: ¿es extrapolable a nuestra población?

Recientemente se han publicado estudios para evaluar el uso de guías basados en índices personalizados para identificar mejor a las pacientes que requieren profilaxis⁽¹⁰⁻¹²⁾.

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

Bibliografía

1. Kourlaba G, Relakis J, Kontodimas S y col. A systematic review and meta-analysis of the epidemiology and burden of venous thromboembolism among pregnant women. *Int J Gynaecol Obstet*. 2016; 132:4-10.
2. Bates SM, Rajasekhar A, Middeldorp S y col. American Society of Hematology 2018 guidelines for management of venous thromboembolism: venous thromboembolism in the context of pregnancy. *Blood Adv*. 2018; 2 (22): 3317-3359.
3. Croles FN, Nasserinejad K, Duvekot JJ y col. Pregnancy, thrombophilia, and the risk of a first venous thrombosis: systematic review and bayesian meta-analysis. *BMJ*. 2017; 359:1-12.
4. Bates SM, Middeldorp S, Rodger M y col. Guidance for the treatment and prevention of obstetric-associated venous thromboembolism. *J Thromb Thrombolysis*. 2016; 41 (1): 92-128.
5. Chan WS, Rey E, Kent NE y col. Venous thromboembolism and antithrombotic therapy in pregnancy. *J Obstet Gynaecol Can*. 2014; 36(6): 527-553.
6. Royal College of Obstetricians and Gynecologists. Green-Top Guideline N° 37a Reducing the risk of thrombosis and embolism during pregnancy and the puerperium. 2015.
7. Bates SM, Greer IA, Middeldorp S y col. American College of Chest Physicians, VTE, thrombophilia, antithrombotic therapy, and pregnancy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis 9th ed. Chest. 2012; 141:691-736.
8. Roeters van Lennep JE, Meijer E, Klumper FJ y col. Prophylaxis with low-dose low-molecular-weight heparin during pregnancy and postpartum: is it effective? *J Thromb Haemost*. 2011; 9:473-480.
9. Bleker SM, Buchmuller A, Chauler C y col. Low-molecular-weight-heparin to prevent recurrent venous thromboembolism in pregnancy: rationale and design of the Highlow study, a randomized trial of two doses. *Tromb Res*. 2016; 144: 62-78.
10. Dargaud Y, Rugeri L, Fleury C y col. Personalized thromboprophylaxis using a risk score for the management of pregnancies with high risk of thrombosis: a prospective clinical study. *J Thromb Haemost*. 2017; 15: 897-906.
11. Chauleur C, Gris JC, Laporte S y col. Benefit of risk score-guided prophylaxis in pregnant women at risk of thrombotic events: a controlled before-and-after implementation study. *Thromb Haemost*. 2018; 118 (9): 1574-1571.
12. Chau C, Campagna J, Vial M y col. Use of a personalized iterative score to evaluate risk of venous thromboembolism during pregnancy and puerperium. *Int J Gynecol Obstet*. 2019; 144: 277-282.



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.

Trombosis asociada a cáncer (TAC). Nuevos desafíos para el hematólogo.

Cancer associated thrombosis (CAT).
New challenges for the hematologist.

Maneyro AJ

Servicio de Hematología - Complejo Médico Churruca-Visca - C.A.B.A.

amaneyro@gmail.com



**IV SIMPOSIO
CONJUNTO EHA - SAH**

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 320-324
Octubre 2019

Palabras claves: cáncer,
trombosis,
fisiopatología.

Keywords: cancer,
thrombosis,
pathogenesis.

La relación entre el cáncer y el tromboembolismo venoso (TEV) es conocida desde hace casi dos siglos; desde las descripciones iniciales de Bouillard y Trousseau^(1,2), múltiples estudios han brindado considerable evidencia acerca de dicha asociación clínica: los pacientes con cáncer tienen un riesgo elevado (4-7 veces) de desarrollar TEV, en particular dentro de los primeros meses del diagnóstico y en presencia de metástasis⁽³⁾; por otra parte, el riesgo de cáncer parece elevado por al menos 2 años luego de un primer episodio de TEV idiopático⁽⁴⁾. El TEV es la segunda causa de muerte en pacientes con cáncer; de hecho, uno de cada 7 pacientes con cáncer que fallecen durante hospitalización, fallecerá de tromboembolismo pulmonar. Aun en los pacientes que sobreviven a un episodio de TEV, las complicaciones del mismo (TEV recurrente, síndrome post-trombótico, hipertensión pulmonar crónica) no son infrecuentes, y conllevan un profundo impacto en la calidad de vida de los mismos y un incremento no

despreciable en los costos de salud⁽⁵⁾.

Existen múltiples factores de riesgo para aparición de TEV en pacientes con cáncer, los cuales pueden tener relación con características propias del paciente, de la neoplasia y de su tratamiento^(5,6).

Factores de riesgo relacionados con el paciente:

- edad avanzada
- comorbilidades (infección, insuficiencia cardíaca y respiratoria)
- antecedente de TEV
- inmovilización prolongada
- trombofilias

Factores de riesgo relacionados con la neoplasia:

- localización (mayor riesgo en neoplasias hematológicas, cánceres de pulmón, colorrectal, estómago, riñón, páncreas, cerebro, ovario y enfermedad metastásica)⁽⁷⁾
- etapa de la enfermedad (mayor riesgo dentro de los primeros 3 meses del diagnóstico y en enfermedad

metastásica)⁽³⁾

Factores de riesgo relacionados con el tratamiento:

- requerimiento de hospitalización
- requerimiento de cirugía mayor
- uso de catéteres venosos centrales
- quimioterapia
- agentes anti-angiogénicos: bevacizumab; talidomida y lenalidomida, combinadas con dexametasona
- tratamientos hormonales: mayor riesgo para tamoxifeno, menor riesgo para inhibidores de aromatasa (anastrozol)
- agentes estimulantes de la eritropoyesis
- soporte transfusional

Activación del sistema hemostático en cáncer

Las células neoplásicas (tanto de tumores sólidos como de enfermedades oncohematológicas) pueden activar la coagulación a través de múltiples mecanismos, que incluyen: la producción de actividades proagregantes, procoagulantes y fibrinolíticas, la liberación de citoquinas proinflamatorias y proangiogénicas y la interacción directa con las células del huésped (células endoteliales, leucocitos y plaquetas) a través de moléculas de adhesión.

Factores procoagulantes de las células neoplásicas

De las actividades procoagulantes producidas por las células neoplásicas, la mejor caracterizada es el factor tisular (FT). Muchos tumores sólidos y neoplasias hematológicas expresan FT en forma constitutiva, y los niveles de expresión tienden a asociarse con la agresividad tumoral. El FT derivado de células tumorales tiene un rol central en la generación de trombina, activación de la coagulación y aumento del riesgo de TEV, pero también contribuye a la progresión tumoral por su efecto angiogénico, modulando la expresión de factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) tanto por las células neoplásicas como por las células endoteliales del huésped, con el consiguiente estímulo a la neovascularización tumoral⁽⁶⁾.

El procoagulante del cáncer (CP) es una cisteína proteasa, expresada en forma exclusiva por las células de diferentes neoplasias que, a diferencia de FT, activa en forma directa al factor X, independientemente del factor VIIa; en pacientes con leucemia promielocítica aguda, la expresión de CP por las cé-

lulas leucémicas desaparece, en aquéllos que logran remisión completa, por el efecto de citodiferenciación del ácido transretinoico⁽⁸⁾.

Se ha demostrado, en una gran variedad de neoplasias (carcinomas de colon, tiroides, hígado, páncreas, vejiga, estómago, mama, próstata, mieloma y linfomas) la expresión aumentada de heparanasa, endoglucuronidasa que cliva el heparán sulfato de la matriz extracelular, actividad claramente implicada en angiogénesis y producción de metástasis. Además de este efecto enzimático, la heparanasa puede afectar el sistema hemostático en forma no enzimática: se ha demostrado que la heparanasa aumenta la expresión de factor tisular y actúa como cofactor del complejo FT- factor VIIa, potenciando la generación de factor Xa; por otro lado, provoca la disociación del inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI) de la superficie celular, con el consiguiente aumento de la actividad procoagulante. Se encontró, además, en pacientes con enfermedades mieloproliferativas crónicas (en particular trombocitemia esencial) portadores de la mutación JAK-2 V617F, el aumento de expresión de heparanasa mediado por el receptor de eritropoyetina, hallazgo que podría contribuir al riesgo trombótico de estos pacientes⁽⁹⁾.

Otro mecanismo de activación de la coagulación mediada por células neoplásicas está dado por las micropartículas (MP). Las MP son vesículas de membrana plasmática, de 0,1 a 1 µm de diámetro, compuestas de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, que son liberadas de diferentes tipos celulares por activación, apoptosis, transformación maligna y estrés; se han descrito niveles elevados de MP circulantes, conteniendo altas concentraciones de fosfatidilserina y FT, en diferentes tipos de neoplasias, tanto tumores sólidos (estómago, páncreas) como enfermedades oncohematológicas (leucemia mielo blástica, mieloma múltiple)⁽¹⁰⁾. El rol patogénico de las MP en la trombosis asociada a cáncer fue demostrado por el desarrollo de un síndrome similar a la coagulación intravascular diseminada en ratones luego de la inyección intravenosa de MP derivadas de células tumorales humanas con alto contenido de FT⁽¹¹⁾. La producción de MP por las células neoplásicas parece estar controlada por eventos genéticos que incluyen mutaciones en oncogenes y genes supresores de tumor⁽¹²⁾; algunos ejemplos los constituyen: expresión de MP que contienen FT como resultado de la mutación del oncogén RAS y exacerbada

por la delección del supresor TP53 en carcinoma colorrectal; aumento de la producción de TF como resultado de la activación, amplificación o mutación del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) en gliomas y aumento de la producción de TF como resultado de la sobreexpresión de HER-2 en otros carcinomas⁽¹³⁾.

Por otra parte, las células tumorales pueden expresar proteínas del sistema fibrinolítico, tanto activadores (activador del plasminógeno tipo urokinasa -uPA- y activador tisular del plasminógeno -tPA-) como inhibidores (inhibidor del activador del plasminógeno -PAI- tipos 1 y 2) y receptores (receptor para uPA, anexina II - co-receptor para plasminógeno y tPA)⁽⁶⁾; se encontró, en pacientes con cáncer pancreático y gliomas, niveles elevados de PAI-1 que podrían predisponer a trombosis⁽¹⁴⁾; en un modelo murino de xenoinjerto de líneas celulares de adenocarcinoma y trombosis inducida, la infusión de bevacizumab (fármaco anti-VEGF que aumenta la expresión de PAI-1 en tumores y en plasma) provocó aumento de la trombosis, la cual se redujo por la administración de un inhibidor de PAI-1⁽¹⁵⁾.

Propiedades procoagulantes del huésped inducidas por el cáncer

Existen una fuerte interacción entre las células tumorales y células del huésped (células endoteliales, leucocitos, plaquetas), que resultan en la inducción en ellas de un fenotipo procoagulante. Dicha interacción está dada, a grandes rasgos, por dos tipos de mecanismos:

- liberación de mediadores solubles: citoquinas proinflamatorias (TNF alfa, IL-1 beta), factores proangiogénicos y estimulantes de colonias (VEGF, G-CSF) y agonistas plaquetarios (ADP, trombina).
- expresión de moléculas de adhesión o de sus receptores.

La activación plaquetaria inducida por células tumorales (TCIPA) contribuye significativamente al potencial protrombótico tumoral, no sólo por el efecto directo de la adhesión y agregación plaquetarias, sino también por la liberación, por plaquetas activadas, de MP con potencial procoagulante. Además de su capacidad procoagulante, la TCIPA es un determinante importante en el desarrollo de metástasis; los agregados plaquetarios podrían actuar como una barrera física que protege a las células del tumor de su reconocimiento por las células inmu-

nocompetentes del huésped⁽¹⁶⁾. Por otra parte, las células de algunos tumores (de células germinales, carcinoma escamoso, tumores del sistema nervioso central) expresan podoplanina, sialoglicoproteína de membrana que puede activar plaquetas y contribuir al mayor riesgo de TEV en estos pacientes; por otra parte, la expresión de podoplanina en pacientes portadores de estos tumores se asocia con reducción de la sobrevida, dada su intervención en los mecanismos de migración, invasión, metástasis y progresión maligna^(6,14).

Ciertos tumores (gastrointestinal, pulmón, mama, ovario) pueden cursar con trombocitosis, la cual constituye un factor de riesgo trombótico en algunos modelos de predicción de riesgo⁽¹⁷⁾; estas neoplasias pueden sintetizar y liberar interleukina-6 (IL-6), la cual estimula la síntesis hepática de trombopoyetina y de esa forma incrementar la trombopoyesis⁽¹⁸⁾.

Recientemente ha surgido el concepto de "plaquetas educadas por tumor": las células neoplásicas (por mecanismos hasta ahora poco claros) actúan sobre los megacariocitos, aumentando la producción plaquetaria y provocando cambios en los perfiles de ARN plaquetarios, modificando su fisiología y su fenotipo hacia un estado protrombótico⁽¹⁹⁾.

Las células tumorales pueden liberar factor estimulante de colonias granulocíticas (G-CSF), provocando aumento del número de neutrófilos circulantes e induciendo su activación; la neutrofilia es un hallazgo frecuente en pacientes con cáncer (sobre todo pulmonar y colorrectal), y su presencia constituye un factor pronóstico adverso⁽¹⁴⁾. Los neutrófilos activados son capaces de liberar trampas celulares de ADN (NETs), las cuales, en situaciones fisiológicas, se comportan como un mecanismo de defensa contra agentes patógenos: si bien, en forma habitual, los neutrófilos actúan englobando microorganismos, en caso de estimulación marcada (tal como ocurre en sepsis), la activación por bacterias o citoquinas provoca la descondensación de la cromatina nuclear, lo cual lleva a la formación de NETs, que median el atrapamiento y destrucción de dichos agentes; el ADN liberado se asocia con enzimas, como catepsina G y elastasa, las cuales inactivan TFPI, aumentando la actividad de FT; además, las NETs proveen el soporte necesario para la adhesión y activación plaquetarias y formación de fibrina, contribuyendo a aumentar el riesgo de trombosis⁽²⁰⁾. Los pacientes con cáncer pueden tener niveles elevados de P-se-

lectina, la cual es expresada por plaquetas activadas y células endoteliales; dicha expresión aumenta el riesgo trombótico favoreciendo el reclutamiento de neutrófilos⁽¹⁴⁾.

Biomarcadores de riesgo trombótico

Los mecanismos biológicos procoagulantes descriptos tienen su correlato bioquímico en la presencia de alteraciones de laboratorio que sugieren un estado de hipercoagulabilidad. En casi la mitad de los pacientes con neoplasias y cerca del 90% de aquéllos con metástasis se objetivan signos de activación de la coagulación: complejos trombina-antitrombina, fragmento 1 + 2 de protrombina, fibrinopéptido A, dímero D, marcadores solubles de activación plaquetaria (beta-tromboglobulina, P-selectina) y neutrófila (elastasa, cathepsina G) y MP circulantes⁽⁶⁾; algunos de ellos (P-selectina, dímero D) fueron agregados a modelos de predicción de riesgo basados en parámetros clínicos, observándose una mejora significativa en la detección de pacientes neoplásicos con alto riesgo de TEV⁽²¹⁾. Sin embargo, al momento actual, la baja disponibilidad de estos

biomarcadores en la práctica habitual y la concurrencia de otros factores de riesgo (relacionados con el paciente, la neoplasia y su tratamiento), limitan una ajustada determinación del riesgo trombótico en el paciente individual⁽¹⁰⁾.

Conclusiones

El cáncer se asocia con un riesgo aumentado de eventos tromboembólicos, por factores relacionados con el tumor, con características propias del paciente y con los tratamientos antineoplásicos. Desde el punto de vista fisiopatológico, las células neoplásicas no sólo expresan factores protrombóticos sino también interactúan, por diversos mecanismos, con las células del huésped, induciendo en ellas cambios procoagulantes; las modificaciones hemostáticas resultantes, además de incrementar el riesgo trombótico, se relacionan con la progresión tumoral y el desarrollo de metástasis. El conocimiento más profundo de estos cambios fisiopatológicos permitirá, seguramente, el desarrollo de estrategias terapéuticas específicas dirigidas, no sólo a reducir el riesgo de TEV, sino también a controlar la progresión neoplásica.

Conflictos de interés: El autor declara no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

1. Bouillard JB, Bouillaud S. De l'Obliteration des veines et de son influence sur la formation des hydropisies partielles: consideration sur la hydropisies passive et general. Arch Gen Med. 1823;1: 188-204.
2. Trousseau A. Phlegmasia alba dolens. Clinique Medicale de l'Hotel-Dieu de Paris 1865. 3: 654-712.
3. Blom JW, Doggen CJ, Osanto S, Rosendaal FR. Malignancies, prothrombotic mutations, and the risk of venous thrombosis. JAMA. 2005; 293(6): 715-722.
4. Murchison JT, Wylie L, Stockton DL. Excess risk of cancer in patients with primary venous thromboembolism: a national, population-based cohort study. Br J Cancer. 2004; 91: 92-95.
5. Noble S, Pasi J. Epidemiology and pathophysiology of cancer-associated thrombosis. Br J Cancer. 2010; 102 Suppl 1: S2-9.
6. Falanga A, Russo L, Milesi V, Vignoli A. Mechanisms and risk factors of thrombosis in cancer. Crit Rev Oncol Hematol. 2017;118: 79-83.
7. Levitan N, Dowlati A, Remick SC y col. Rates of initial and recurrent thromboembolic disease among patients with malignancy vs those without malignancy. Risk analysis using Medicare claims data. Medicine (Baltimore). 1999; 78: 285-291.
8. Falanga A, Iacoviello L, Evangelista V y col. Loss of blast cell procoagulant activity and improvement of hemostatic variables in patients with acute promyelocytic leukemia administered all-trans-retinoic acid. Blood. 1995; 86: 1072-1081.
9. Nadir Y, Brenner B. Heparanase procoagulant activity in cancer progression. Thromb Res. 2016; 140 (Suppl 1): S44-S48.
10. Falanga A, Schieppati F, Russo D. Cancer Tissue Procoagulant Mechanisms and the Hypercoagulable State of Patients with Cancer. Semin Thromb Hemost.

- 2015; 41: 756-764.
11. Davila M, Amirkhosravi A, Coll E y col. Tissue factor-bearing microparticles derived from tumor cells: impact on coagulation activation. *J Thromb Haemost.* 2008; 6: 1517-1524.
 12. Garnier D, Magnus N, Lee TH y col. Cancer cells induced to express mesenchymal phenotype release exosome-like extracellular vesicles carrying tissue factor. *J Biol Chem.* 2012; 287(52): 43565-43572.
 13. Magnus N, D'Asti E, Meehan B, Garnier D, Rak J. Oncogenes and the coagulation system-forces that modulate dormant and aggressive states in cancer. *Thromb Res.* 2014; 133 (Suppl 2): S1-S9.
 14. Hisada Y, Mackman N. Cancer-associated pathways and biomarkers of venous thrombosis. *Blood.* 2017;130: 1499-1506.
 15. Chen N, Ren M, Li R y col. Bevacizumab promotes venous thromboembolism through the induction of PAI-1 in a mouse xenograft model of human lung carcinoma. *Mol Cancer.* 2015; 14: 140.
 16. Palumbo JS, Talmage KE, Massari JV y col. Platelets and fibrin(ogen) increase metastatic potential by impeding natural killer cell-mediated elimination of tumor cells. *Blood.* 2005; 105: 178-185.
 17. Mulder FI, Candeloro M, Kamphuisen PW y col. The Khorana Score For Prediction Of Venous Thromboembolism In Cancer Patients: A Systematic Review And Meta-Analysis. *Haematologica.* 2019; 104: 1277-1287.
 18. Stone RL, Nick AM, McNeish IA y col. Paraneoplastic thrombocytosis in ovarian cancer. *N Engl J Med.* 2012; 366: 610-618.
 19. Plantureux L, Mège D, Crescence L, Dignat-George L, Dubois C, Panicot-Dubois L. Impacts of Cancer on Platelet Production, Activation and Education and Mechanisms of Cancer-Associated Thrombosis. *Cancers (Basel).* 2018; 10, 441.
 20. Demers M, Wagner DD. Neutrophil extracellular traps: a new link to cancer-associated thrombosis and potential implications for tumor progression. *Oncoimmunology.* 2013; 2 (2), e22946-1- e22946-3.
 21. Ay C, Dunkler D, Marosi C y col. Prediction of venous thromboembolism in cancer patients. *Blood.* 2010; 116: 5377-5382.



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.

Puntuaciones de predicción clínica para el tromboembolismo venoso en pacientes con neoplasia hematológica

Clinical prediction scores for venous thromboembolism in patients with a hematological malignancy

Frits Mulder, MD, PhD
Nick van Es, MD, PhD

*Department of Vascular Medicine, Amsterdam University Medical Center,
Amsterdam, The Netherlands*

n.vanes@amsterdamumc.nl



IV SIMPOSIO
CONJUNTO EHA - SAH

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 325-329
Octubre 2019

Palabras claves: tromboembolismo venoso, neoplasia hematológica, predicción.

Keywords: venous thromboembolism, hematological malignancy, prediction.

Introduction

Venous thromboembolism (VTE) is a common complication in patients with hematological malignancy with an overall incidence of approximately 3.5% per 100 person years⁽¹⁾. The risk of VTE varies substantially across different types of hematological malignancy, and also depends on cancer treatment, presence of a central venous catheter, and cancer stage⁽²⁾. International guidelines recommend routine thromboprophylaxis in patients with multiple myeloma treated with immunomodulatory chemotherapy^(3,4), but not in those with other hematological malignancies. Several risk scores have been developed to identify cancer patients at high risk of VTE in whom thromboprophylaxis may be justified, but only a few were specifically evaluated in patients with a hematological malignancy. This review aims to provide an overview of the performance and potential clinical utility of the currently available risk scores for cancer-associated VTE in patients with a hematological malignancy.

Khorana score

The most widely used risk assessment tool for cancer-associated VTE is the Khorana score, which is now endorsed by several guidelines^(5,6). This risk score aims to identify ambulatory patients with solid cancer or lymphoma at high risk of VTE prior to cancer therapy based on five clinical and laboratory parameters: primary tumor site (e.g. +1 point for lymphoma), platelet count of $350 \times 10^9/L$ or more (+1 point), hemoglobin concentration of less than 10 g/dL and/or use of erythropoiesis-stimulating agents (+1 point), leukocyte count of more than $11 \times 10^9/L$ (+1 point), and body mass index of 35 kg/m^2 or more (+1 point)⁽⁷⁾. The score was derived in a prospective cohort of 2,701 cancer patients, of whom 12% patients had lymphoma. In the internal validation cohort of 1,365 patients, the observed 3-month VTE risk was 6.7% in patients with a high risk score (≥ 3 points) compared to 1.5% in patients with a low or intermediate risk score (0-1 points), corresponding to a relative risk (RR) of 4.5 (95%

confidence interval [CI], 2.1-9.6; Table 1). Results were not reported separately for lymphoma patients, which limits the generalizability of the findings for this particular group. In addition, the score was not intended to be used in patients with other types of hematological malignancies. In the past 3 years, several studies addressed these issues by evaluating the performance of the Khorana score in patients with various hematological malignancies, as summarized in Table 1. Taken together, these external validation studies show that the relative risk of VTE in patients with a hematological malignancy and a high risk Khorana score is lower (1.2 to 2.4) than reported in the original derivation study. This was confirmed in a recent systematic review and meta-analysis showing a 1.5-fold higher risk of VTE in patients with a hematological malignancy and a Khorana score ≤ 2 than in those with a Khorana score ≥ 3 ⁽⁸⁾. Whether this is due to differences

in case-mix, study design, or follow-up duration, or reflects a lower performance in patients with a hematological malignancy in general remains unknown. Another concern is the low proportion of patients classified as high risk, ranging between 5 and 15%, which, in combination with the modest relative risks, limits the clinical utility of the score in selecting patients for thromboprophylaxis. The reported positive predictive values (7 to 19%) may be high enough to justify thromboprophylaxis, but differences in follow-up duration and types of included cancers make it difficult to translate these findings to clinical practice (Table 1). The score has not been validated in patients with acute leukemia, because these patients often have abnormal blood counts. Whether extending the Khorana score with D-dimer and soluble P-selectin levels, as proposed by Ay and colleagues, improves risk stratification in lymphoma patients is unknown⁽⁹⁾.

Table 1. Studies evaluating risk scores for thrombosis in patients with a hematological malignancy

First author	Number of patients	Type	Follow-up duration	Outcome	Overall incidence n (%)	Patients in high risk group n (%)	Positive predictive value (%)	RR for high vs lower risk patients (95% CI)
Khorana score								
Khorana 2008 (derivation cohort) ⁽⁷⁾	2701*	Lymphoma	Median 73 days	VTE	60 (2.2)*	340 (12.6)*	7.1*	4.6 (2.8-7.7)*
Khorana 2008 (validation cohort)	1365†	Lymphoma	Median 73 days	VTE	28 (2.1)†	149 (10.9)†	6.7†	4.5 (2.1-9.6)†
Lim 2015 ⁽¹⁷⁾	322	DLBCL	Median 42 months	VTE	34 (10.6)	16 (4.9)	18.8	1.9 (0.6-5.4)
Antic 2016 (cohort 1) ⁽¹⁸⁾	1236	NHL, HL, CLL, SLL	NR	ATE, VTE	65 (5.3)	NR	14.8	NR
Antic 2016 (cohort 2) ⁽¹⁸⁾	584	NHL, HL, CLL, SLL	NR	ATE, VTE	34 (5.8)	NR	14.8	NR
Rupa-Matysek 2017 ⁽¹⁹⁾	428	DLBCL, HL	Median 37 months	VTE	64 (15)	64 (15)	17	1.2 (0.7-2.1)
Santi 2017 ⁽²⁰⁾	1189	DLBCL, FL, INFL, MCL	6 months	VTE	41 (3.4)	141 (11.9)	7.1	2.4 (1.2-4.8)

ThroLy score								
Antic 2016 ⁽¹⁰⁾ (derivation cohort)	1236	NHL, HL, CLL, SLL	NR	ATE, VTE	65 (5.3)	NR	25.1	NR
Antic 2016 (validation cohort)	584	NHL, HL, CLL, SLL	NR	ATE, VTE	34 (5.8)	NR	28.9	NR
IPSET thrombosis score								
Barbui 2012 (derivation cohort) ⁽²¹⁾	535	ET	Median 6.5 years	ATE, VTE	59 (11)	63 (12)	17.5	1.7 (0.9-3.1)
Barbui 2012 (internal validation cohort) ⁽²¹⁾	356	ET	Median 6.1 years	ATE, VTE	44 (12.4)	48 (14)	22.9	2.1 (1.2-3.9)
Barbui 2012 (external validation cohort) ⁽²¹⁾	329	ET	Median 5.0 years	ATE, VTE	31 (9.4)	164 (50)	12.8	2.1 (1.0-4.4)
Fu 2014 ⁽²²⁾	746	ET	Median 49 months	ATE, VTE	77 (10.3)	221 (29.6)	19.5	3.0 (2.0-4.6)
Sevindik 2015 ⁽²³⁾	112	ET	Median 4.1 years	ATE, VTE	38 (33.9)	45 (40.2)	62.2	4.2 (2.3-7.7)
Navarro 2016 ⁽²⁴⁾	44	ET	NR	ATE, VTE	19 (43.2)	24 (54.6)	25.0	15.0 (2.2-102.8)

* Of the total study group, 12% had lymphoma and 88% a solid cancer.

† Of the total study group, 14% had lymphoma and 86% a solid cancer

Abbreviations: ATE, arterial thromboembolism; CLL, chronic lymphocytic lymphoma; DLBCL, diffuse large B-cell lymphoma; ET, essential thrombocythemia; FL, follicular lymphoma; HL, Hodgkin's lymphoma; INFL, indolent non-follicular lymphoma; NHL, non-Hodgkin lymphoma; MCL, mantle cell lymphoma; MM, multiple myeloma; NR, not reported; RR, relative risk; SLL, small lymphocytic lymphoma; VTE, venous thromboembolism.

ThroLy score

The ThoLy score was developed by Antic and colleagues for predicting venous and arterial thrombotic events in ambulatory lymphoma patients.¹⁰ The score is composed of seven clinical and laboratory variables and was derived in 1,236 patients with lymphoma or chronic lymphocytic leukemia receiving chemotherapy. In the internal validation cohort of 584 patients, the risk of arterial or venous thromboembolism was 29% in patients with an intermediate or high risk score (≥ 2 points) compared to 2.4% in those with a low risk score (0-1 points). The c-statistic of the score was 0.86. However, important information needed to fully appreciate the

score's performance, such as follow up-duration and proportion of patients classified as being at risk, were unfortunately not reported. Both venous and arterial thromboembolic events, including superficial thrombophlebitis, were part of the outcome, which limits the use of the score when deciding about primary VTE prevention. Although the ThoLy score appears promising, it needs to be validated in external patient cohorts before it can be implemented in clinical practice.

IPSET-thrombosis score

The International Prognostic Score for Essential Thrombocythemia (IPSET) score was developed to

predict arterial or venous thrombotic events in patients with essential thrombocythemia (ET).¹¹ The score is based on four variables: age 60 years or older (+1 point), cardiovascular risk factors (+1 point), previous thrombosis (+2 points), and JAK2V617F mutation (+2 points). The risk of arterial or venous thrombotic event in the high risk group (≥ 3 points) ranged between 13 and 23% in the original derivation, internal validation, and external validation cohorts. Several external validation studies confirmed the discriminatory performance of the IPSET score with reported relative risks of thrombosis between 3.0 and 15 in high risk patients (Table 1). The group that introduced the IPSET-score subsequently proposed a 'practice-relevant revision' by stratifying patients into four groups based on age, previous thrombosis, and JAK2V617F mutation.¹² Although the score appeared to perform well in an external validation study,¹³ its ability to improved risk-adapted prophylaxis needs to be confirmed in prospective studies.

Thromboprophylaxis risk assessment tool for multiple myeloma

A VTE risk assessment tool was developed by the International Multiple myeloma Working Group (IMWG) for patients with multiple myeloma receiving immunomodulatory drugs.⁴ The tool consists of a list of 17 patient-, myeloma-, and treatment-specific risk factors. If no or any one of the risk factors is present in a patient receiving thalidomide or

lenalidomide, aspirin once daily is recommended. If two or more risk factors are present, a prophylactic dose of low-molecular-weight heparin or warfarin targeted at an INR of 2 to 3 is recommended. The IMWG risk score is based on expert opinion without any validation studies, and should therefore not be regarded a firm guideline.

Future perspectives

The Khorana score has now been evaluated in several studies of patients with hematological malignancies, but results are not unambiguous. Given the uncertainty, clinicians should be cautious to use the score to select patients for thromboprophylaxis. The lymphoma-specific ThroLy score and ET-specific (revised) IPSET-scores are promising, but need additional external validation before they can be used in clinical practice. Future studies need to focus either on validating existing scores in different settings or on developing new models that more accurately select patients with a high short-term risk of VTE. Ideally, scores should then be used to guide risk-adapted thromboprophylaxis in randomized trials to confirm their performance and clinical benefit, as was previously done for patients with solid cancer.^{14,15}

Conflictos de interés: F.I.M. has no conflicts of interest. N.v.E. received payment from Bayer, Daiichi Sankyo, and LEO Pharma for participating in advisory boards.

Bibliografía

1. Horsted F, West J, Grainge MJ. Risk of venous thromboembolism in patients with cancer: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Med.* 2012;9(7):e1001275. doi:10.1371/journal.pmed.1001275.
2. Caruso V, Di Castelnuovo A, Meschengieser S et al. Thrombotic complications in adult patients with lymphoma: A meta-analysis of 29 independent cohorts including 18 018 patients and 1149 events. *Blood.* 2010;115(26):5322-5328. doi:10.1182/blood-2010-01-258624.
3. Terpos E, Kleber M, Engelhardt M et al. European myeloma network guidelines for the management of multiple myeloma-related complications. *Haematologica.* 2015;100(10):1254-1266. doi:10.3324/haematol.2014.117176.
4. International Myeloma Working Group (IMWG). IMWG Guidelines for the Prevention of Thalidomide- and Lenalidomide-Associated Thrombosis in Myeloma. 2010.
5. Lyman GH, Bohlke K, Khorana AA et al. Venous thromboembolism prophylaxis and treatment in patients with cancer: american society of clinical oncology clinical practice guideline update 2014. *J Clin Oncol.* 2015;33(6):654-656. doi:10.1200/JCO.2014.59.7351.
6. Streiff MB, Holmstrom B, Ashrani A et al. Cancer-associated venous thromboembolic disease, version 1.2015: Featured updates to the NCCN Guidelines. *JNCCN J*

- Natl Compr Cancer Netw. 2015;13(9):1079-1095.
7. Khorana AA, Kuderer NM, Culakova E, Lyman GH, Francis CW. Development and validation of a predictive model for chemotherapy-associated thrombosis. *Clin Trials Obs.* 2008;111(10):4902-4908. doi:10.1182/blood-2007-10-116327.An.
 8. Mulder FI, Candeloro M, Kamphuisen PW et al. The Khorana score for prediction of venous thromboembolism in cancer patients: a systematic review and meta-analysis. *Haematologica.* January 2019. doi:10.3324/haematol.2018.209114.
 9. Ay C, Dunkler D, Marosi C et al. Prediction of venous thromboembolism in cancer patients. *Blood.* 2010;116(24):5377-5382. doi:10.1182/blood-2010-02-270116.
 10. Antic D, Milic N, Nikolovski S et al. Development and validation of multivariable predictive model for thromboembolic events in lymphoma patients. *Am J Hematol.* 2016;91(10):1014-1019. doi:10.1002/ajh.24466.
 11. 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):5128-5133. doi:10.1182/blood-2012-07-444067.
 12. 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. doi:10.1038/bcj.2015.94.
 13. Haider M, Gangat N, Lasho T et al. Validation of the revised international prognostic score of thrombosis for essential thrombocythemia (IPSET-thrombosis) in 585 Mayo clinic patients. *Am J Hematol.* 2016;91(4):390-394. doi:10.1002/ajh.24293.
 14. Carrier M, Abou-Nassar K, Mallick R et al. Apixaban to Prevent Venous Thromboembolism in Patients with Cancer. *N Engl J Med.* 2019;380(8):711-719. doi:10.1056/NEJMoa1814468.
 15. Khorana AA, Soff GA, Kakkar AK et al. Rivaroxaban for Thromboprophylaxis in High-Risk Ambulatory Patients with Cancer. *N Engl J Med.* 2019;380(8):720-728. doi:10.1056/NEJMoa1814630.
 16. Khorana AA, Kuderer NM, Culakova E, Lyman GH, Francis CW. Development and validation of a predictive model for chemotherapy-associated thrombosis. *Blood.* 2008;111(10):4902-4907. doi:10.1182/blood-2007-10-116327.
 17. Lim SH, Woo SY, Kim S, Ko YH, Kim WS, Kim SJ. Cross-sectional Study of Patients with Diffuse Large B-cell lymphoma: Assessing the Effect of Host Status, Tumor Burden and Inflammatory Activity on Venous Thromboembolism. *Cancer Res Treat.* 2015:1-10. doi:10.4143/crt.2014.266.
 18. Antic D, Milic N, Nikolovski S et al. Comparative analysis of predictive models for thromboembolic events in lymphoma patients. *Hematol Oncol.* 2017;35:416-416. doi:10.1002/hon.2439_198.
 19. Rupa-Matysek J, Gil L, Kaźmierczak M, Barańska M, Komarnicki M. Prediction of venous thromboembolism in newly diagnosed patients treated for lymphoid malignancies: validation of the Khorana Risk Score. *Med Oncol.* 2018;35(1):1-8. doi:10.1007/s12032-017-1065-4.
 20. Santi RM, Ceccarelli M, Bernoccol E et al. Khorana score and histotype predicts incidence of early venous thromboembolism in non-Hodgkin lymphomas. *Thromb Haemost.* 2017;117(8):1615-1621. doi:10.1160/TH16-11-0895.
 21. Barbui T, Finazzi G, Carobbio A et al. CME article Development and validation of an International Prognostic Score of thrombosis in World Health Organization – essential thrombocythemia (IPSET-thrombosis). 2015;120(26):5128-5134. doi:10.1182/blood-2012-07-444067.
 22. Fu R, Xuan M, Lv C et al. External validation and clinical evaluation of the International Prognostic Score of Thrombosis for Essential Thrombocythemia (IPSET-thrombosis) in a large cohort of Chinese patients. *Eur J Haematol.* 2014;92(6):502-509. doi:10.1111/ejh.12275.
 23. Sevindik OG, Mersin S, Katgi A et al. IPSET-thrombosis better identifies thrombosis-free survival: A Turkish cohort. *Clin Lymphoma, Myeloma Leuk.* 2015;15(6):e101-e104. doi:10.1016/j.clml.2015.02.004.
 24. Navarro LM, Trufelli DC, Bonito DR, Del Giglio A, Bollmann PW. Application of prognostic score IPSET-thrombosis in patients with essential thrombocythemia of a Brazilian public service. *Rev Assoc Med Bras.* 2016;62(7):647-651. doi:10.1590/1806-9282.62.07.647.



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.

Terapia epigenética y más allá en leucemia mieloblástica aguda.

Epigenetic therapy and beyond in acute myeloblastic leukemia

Rivas MM

Hospital Universitario Austral

mrivas@cas.austral.edu.ar



**IV SIMPOSIO
CONJUNTO EHA - SAH**

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 330-336
Octubre 2019

Palabras claves: epigenética,
terapia epigenética,
leucemia mieloblástica aguda.

Keywords: epigenetics,
epigenetic therapy,
acute myeloblastic leukemia.

Resumen

La regulación epigenética ha sido un campo de rápida expansión en la hematopoyesis. En la última década se ha comprobado la importancia de la desregulación de los mecanismos epigenéticos en la patogenia de la leucemia mieloide aguda (LMA). A diferencia de los cambios genéticos, las modificaciones epigenéticas son frecuentemente reversibles, lo que brinda oportunidades para el tratamiento dirigido utilizando inhibidores específicos. En esta revisión se resumirá los roles fisiológicos de estos modificadores epigenéticos durante la hematopoyesis, luego se desarrollará una descripción general de las alteraciones en genes vinculados en neoplasias hematopoyéticas mieloides. Y, finalmente, se describirá enfoques terapéuticos dirigidos a las modificaciones epigenéticas.

Introducción

Las proteínas histonas proporcionan un armazón para el ADN dentro del núcleo de las células eucariotas. El complejo macromolecular e incluye al ADN e histonas se denomina cromatina. La modificación de la cromatina que altera las interacciones entre el ADN y las histonas es un proceso altamente dinámico en las células e interviene en la regulación normal de la transcripción, la reparación y la replicación del ADN⁽¹⁾.

El término epigenética se refiere a un conjunto de modificaciones transmisibles mitóticamente que influye en la arquitectura de la cromatina y la expresión de los genes, sin cambios en la secuencia primaria del ADN. A diferencia de los cambios genéticos, las modificaciones epigenéticas son potencialmente reversibles, lo que brinda oportunidades

para el tratamiento dirigido utilizando inhibidores específicos⁽¹⁻²⁾.

Las marcas epigenéticas son el resultado de la acción enzimática de proteínas específicas. Las ganancias o pérdidas en la función de estas proteínas modificadoras epigenéticas a menudo interrumpen el patrón epigenético normal, que posteriormente puede contribuir a la expresión génica aberrante que se presenta en el cáncer. La prevalencia de mutaciones somáticas en las enzimas modificadoras epigenéticas en la LMA y otros trastornos hematológicos, como síndromes mielodisplásicos (SMD) y neoplasias mieloproliferativas (NMP), es indicativa del papel importante de la epigenética en la patogénesis de estos trastornos. Como grupo, se pueden encontrar mutaciones somáticas que afectan directamente la función normal de las enzimas modificadoras epigenéticas en aproximadamente el 40% de todos los pacientes con LMA. Este porcentaje sube a casi el 50% cuando se considera sólo el subconjunto de casos citogenéticamente normales.

Ejemplos de fenómenos epigenéticos incluyen la metilación de citosina, modificaciones de las histonas, o alteración de ARN no codificante⁽²⁻³⁾.

Es el objetivo de esta revisión resumir los mecanismos epigenéticos que regularían la hematopoyesis normal, describir las alteraciones epigenéticas que han demostrado impacto en la generación de leucemias y explicar las terapias dianas que actúan sobre estas alteraciones.

Mecanismos de regulación epigenética

1. Metilación de citosina

Una forma importante de información epigenética en mamíferos es la metilación del ADN. Ésta se asocia con la formación de heterocromatina y la represión transcripcional, se produce en el carbono C-5 de las citosinas en el ADN para formar 5 metilcitosina (5 mC)⁽¹⁾.

Hay tres metiltransferasas de ADN (DNMT) principales que establecen y mantienen la metilación del ADN. DNMT1 juega un papel clave en el mantenimiento de la metilación del ADN después de la replicación del ADN, mientras que DNMT3a y DNMT3b promueven la metilación del ADN *de novo* en todo el genoma. La demetilación del ADN es un proceso dinámico que involucra a proteínas TET e IDH⁽³⁻⁵⁾.

Las enzimas TET, TET1, TET2 y TET3 catalizan la

oxidación sucesiva de 5mC a 5-hidroximetilcitosina (5hmC), 5-formilcitosina (5-fC) y luego 5-carboxilcitosina (5-caC). Estos productos de oxidación de 5mC están implicados como intermediarios en la conversión de 5mC en citosina no metilada, proporcionando un primer paso en una ruta para la desmetilación de ADN activa. Las enzimas TET necesitan alfa-cetoglutarato (a-KG) para su función catalítica. Las proteínas IDH (IDH1 e IDH2) generan a-KG a partir de isocitrato. La salida del metabolito aberrante 2-hidroxilglutarato de la mitocondria al citoplasma estaría mediada por BCL-2⁽⁶⁾.

2. Modificación de histonas

El ADN eucariótico se empaqueta con histonas y proteínas no histónicas conformando la cromatina y esto tiene dos consecuencias importantes. En primer lugar, permite la compactación de aproximadamente 1,8 m de ADN en un núcleo que suele tener un diámetro de 5 a 20 mcm. En segundo lugar, promueve la regulación de eventos celulares esenciales, incluidas la transcripción, la especificidad del linaje, la replicación del ADN y la división celular⁽¹⁻³⁾.

Se describió un rango diverso de modificaciones de histonas que incluyen: acetilación, metilación, fosforilación, ubiquitinación, sumoilación, formilación, deiminación, ribosilación de ADP e isomerización de prolina. Las modificaciones postraduccionales covalentes de las colas de las histonas pueden afectar de manera reversible la expresión génica al modificar su interacción con el ADN y otras proteínas nucleares. Estas modificaciones pueden tener efectos de activación o represión en la expresión de los genes circundantes, dependiendo de qué residuo de histona reciba la modificación particular⁽²⁾.

La acetilación de histonas implica la transferencia de grupos acetilo a residuos de lisina en proteínas de histona. Los procesos de acetilación y desacetilación se rigen por las acetiltransferasas de histona lisina (KAT) y las desacetilasas de histona (HDAC), respectivamente. La acetilación de residuos de lisina produce conformaciones de cromatina abiertas, mientras que la desacetilación produce cromatina condensada y cerrada.

Se han descrito translocaciones esporádicas que involucran KAT en tumores malignos mieloides, y rara vez se han identificado mutaciones en HDAC. Sin embargo, existe evidencia de que las HDAC pueden ser reclutadas de manera aberrante por las

oncoproteínas mieloides, como EVI1 o PML-RAR alfa. Estas oncoproteínas con frecuencia interactúan con proteínas de armazón o complejos principales, que reclutan HDAC. Esto conduce a la remodelación de la cromatina, en particular la desacetilación de lisinas en las colas de histonas cerca de los sitios de unión del factor de transcripción. Estos cambios afectan a la transcripción de genes diana putativos⁽³⁾.

3. Alteración del ARN no codificante

Los miARN son pequeños ARN no codificantes que regulan la expresión génica mediante el silenciamiento postranscripcional de genes pre establecidos. Se expresan de forma específica para cada tejido y controlan una amplia gama de procesos biológicos, incluida la proliferación celular, la apoptosis y la diferenciación.

Además, los miRNA también pueden modular los mecanismos reguladores epigenéticos dentro de una célula dirigiéndose a las enzimas responsables de la metilación del ADN (DNMT3A y DNMT3B) y las modificaciones de histonas (EZH2). Tal interacción entre los diversos componentes de la maquinaria epigenética enfatiza la naturaleza integrada de los mecanismos epigenéticos involucrados en el mantenimiento de los patrones globales de expresión génica⁽⁴⁾.

Mutaciones puntuales frecuentes en SMD y LMA que modifican fenómenos epigenéticos DNMT3.

Distintas líneas de estudios indican que las mutaciones DNMT son eventos tempranos en el curso del desarrollo de las neoplasias. Las mutaciones DNMT3 más frecuentes en neoplasias mieloides se hayan en el residuo R882 (60%) y son típicamente heterocigotas.

El mecanismo por el cual la DNMT3A mutada contribuye a la transformación leucémica no está completamente claro. Se presume que el DNMT3A mutada actúa como dominante negativa sobre el DNMT3A de tipo salvaje. Existe evidencia de que las células de la LMA con la mutación R882H tienen una reducción profunda de la actividad de metiltransferasa *de novo*.

Estudios recientes con datos de secuenciación del genoma de individuos sin enfermedades hematológicas mostraron claramente que la hematopoyesis con frecuencia se vuelve clonal con la edad. Las

mutaciones de DNMT3A son las mutaciones más comunes en dicha hematopoyesis clonal de potencial indeterminado. En conjunto, las mutaciones de DNMT3A parecen dar una pequeña ventaja a la célula madre hematopoyética mutada que puede conducir a su predominio con el tiempo, lo que se convierte en la base del desarrollo posterior de las neoplasias hematopoyéticas⁽⁵⁾.

TET2, IDH1, IDH2

Se han encontrado mutaciones recurrentes de TET2 en una amplia gama de neoplasias hematopoyéticas, incluidas LMA, SMD, leucemia mielomonocítica crónica (LMMC) y leucemia/linfoma de células T. Además, también se pueden encontrar mutaciones TET2 en individuos sanos de edad avanzada con hematopoyesis clonal de potencial indeterminado. Los pacientes con mutaciones TET2 muestran firmas de hipermetilación superpuestas. Las mutaciones TET2 y las mutaciones IDH1/IDH2 son mutuamente excluyentes en LMA.

Las mutaciones IDH1/IDH2 están asociadas con firmas de hipermetilación de citosina global. Las proteínas IDH catalizan la conversión de isocitrato a alfa-cetoglutarato tanto en la mitocondria como en el citoplasma de las células. Las mutaciones en IDH1 e IDH2 dan como resultado la producción de un metabolito aberrante, el 2-hidroxiglutarato. Se ha demostrado que esta molécula actúa como un inhibidor competitivo de la alfa-cetoglutarato, lo que resulta en la inhibición de TET2⁽⁶⁾.

EZH2

EZH2 cataliza la di- y trimetilación de H3K27 y forma parte del complejo represor polycomb PRC2, lo que resulta en represión transcripcional. La ganancia aberrante de acción de EZH2 se ha asociado con la represión transcripcional de genes diana críticos en varios tipos de cáncer. Sin embargo, en las neoplasias mieloides, las mutaciones de EZH2 conducen a la pérdida de la función. Por lo tanto, EZH2 actúa como un oncogén en los linfomas de células B y NKT, en donde se caracteriza por mutaciones en el residuo Y641, mientras que actúa como un supresor tumoral en MDS y T-ALL.

En un modelo de ratón con SMD, la supresión del EZH2 promovió el desarrollo de SMD al afectar las células madres hematopoyéticas normales mediante la activación de respuestas inflamatorias de citoqui-

nas y al mismo tiempo que evitó la transformación a LMA a través de la represión mediada por PRC1 de Hoxa9.

ASXL1

ASXL1 se asigna a la región cromosómica 20q11, cercana al gen DNMT3B. ASXL1 comprende 12 exones y se expresa en la mayoría de los tipos de células hematopoyéticas.

Las mutaciones de ASXL1 se han encontrado con frecuencia en las neoplasias mieloides, incluidas LMMC, SMD y LMA, pero rara vez se han encontrado en las neoplasias linfoides. La mayoría de las mutaciones ASXL1 son heterocigotas y se localizan en el exón 12 del gen, generando proteínas truncas en el extremo carboxilo terminal⁽⁷⁾.

Se debate si las mutaciones ASXL1 promueven la transformación mieloides a través de una ganancia de función o pérdida de función.

Varios trabajos han asociado las mutaciones ASXL1 con el resultado de enfermedades mieloides malignas. En varios estudios de pacientes con mielofibrosis primaria, la mutación ASXL1 se asoció con una enfermedad agresiva y sobrevida global (SG) más corta. En LMMC, la presencia de una mutación ASXL1 podría predecir la progresión a LMA. En los SMD, las mutaciones de ASXL1 se asocian con un tiempo reducido de progresión a LMA y constituyen un marcador pronóstico independiente⁽⁷⁻⁸⁾.

Las mutaciones de ASXL1 se han asociado con una sobrevida inferior entre los pacientes con LMA y riesgo desfavorable según ELN, pero no entre los pacientes con riesgo intermedio-I. Tomados en conjunto, estos datos muestran que las mutaciones ASXL1 tienen valor pronóstico en ciertos subgrupos de pacientes con LMA⁽⁷⁾.

Las mutaciones en ASXL2, un homólogo de ASXL1, se encontraron específicamente en LMA con el reordenamiento RUNX1- RUNX1T1 (AML1-ETO)⁽⁹⁾.

Tratamiento epigenético dirigido en LMA.

Teniendo en cuenta la reversibilidad inherente de las marcas epigenéticas, la regulación epigenética desordenada plantea la posibilidad de usar drogas dirigidas.

La traducción de dichos medicamentos al uso clínico estándar aún se encuentra en una etapa temprana. Existen drogas en diversas etapas del desarrollo pre-clínico y clínico. Primero serán descriptos los medi-

camentos que están actualmente disponibles.

Fármacos dirigidos a patrones desordenados de metilación e hidroximetilación de citosina de ADN

Dos compuestos con modulación epigenética, 5-azacitidina (azacitidina) y 5-aza-2-desoxicitidina (decitabina) fueron los primeros en ser aprobados para uso clínico en SMD y posteriormente LMA. Ambos son análogos de pirimidina que funcionan como inhibidores de las metiltransferasas de ADN. La azacitidina se puede convertir en decitabina, que se incorpora al ADN. La azacitidina en sí se incorpora predominantemente al ARN⁽¹⁰⁾.

Se cree que ambas drogas ejercen sus efectos invirtiendo la hipermetilación aberrante del ADN y restaurando así la expresión de genes críticos (supresores de tumores). La eficacia de estas drogas hipometilantes ha sido demostrada en el tratamiento de pacientes con SMD de alto riesgo y con LMA que no son elegibles para la quimioterapia intensiva⁽¹¹⁻¹²⁻¹³⁾.

Es probable que no todos los pacientes sean igualmente susceptibles a estas drogas. En SMD, mutaciones genéticas particulares, como las de TET2 y DNMT3A, pueden predecir una mejor respuesta al tratamiento con hipometilantes. Actualmente no hay biomarcadores bien establecidos que predican la respuesta, es necesario realizar estudios prospectivos comparando distintas poblaciones con determinadas características genéticas o patrones de metilación para establecer qué subtipos de LMA puede beneficiarse del tratamiento con inhibidores de DNMT⁽¹⁰⁾.

La guadecitabina (SGI-110), un nuevo análogo de la decitabina con una mejor biodisponibilidad debido a una mayor resistencia a la desaminación, ha demostrado tasas de respuesta prometedoras tanto en pacientes ancianos con LMA recién diagnosticados como en LMA recaída/refractaria⁽¹⁴⁻¹⁵⁾.

El mecanismo por el cual las mutaciones de IDH contribuyen a la leucemogénesis es la hipermetilación del ADN y se ha demostrado que los inhibidores de la IDH reducen los niveles de 2-HG, permitiendo el funcionamiento adecuado de TET-2, restableciendo un perfil adecuado de metilación y permitiendo la diferenciación de las células leucémicas. Con la intención de modificar este perfil de hipometilación, la terapia combinada de inhibidores de IDH y agentes hipometilantes (AHM) parece ser

una estrategia terapéutica prometedora. Los datos preclínicos han demostrado un efecto sinérgico de enasidenib y 5-AZA, esto condujo al inicio de un ensayo clínico de fase I/II de enasidenib y 5-AZA (www.clinicaltrials.gov #NCT02677922). En este estudio en la población de eficacia primaria (125 pacientes), la tasa de remisión completa (RC) o remisión completa con recuperación hematológica parcial (RCi) fue del 30,4% (intervalo de confianza [IC] del 95%, 22,5 a 39,3), la tasa de RC fue del 21,6% (95% IC, 14,7 a 29,8), y la tasa de respuesta general fue 41,6% (IC 95%, 32,9 a 50,8). La duración media de estas respuestas fue de 8,2 meses (IC 95%, 5,5 a 12,0), 9,3 meses (IC 95%, 5,6 a 18,3) y 6,5 meses (IC 95%, 4,6 a 9,3), respectivamente. La independencia transfusional se logró en 29 de 84 pacientes (35%), y los pacientes que tuvieron una respuesta presentaron menos infecciones y episodios de neutropenia febril que aquéllos que no respondieron. Entre 34 pacientes que tuvieron una RC o RCi, 7 (21%) no tenían mutaciones IDH1 residuales detectables en el ensayo digital de reacción en cadena de la polimerasa⁽¹⁶⁾.

En el primer estudio fase 1/2 (www.clinicaltrials.gov #NCT01915498) en pacientes con neoplasias mieloides avanzadas con mutación IDH2, se evaluó la dosis máxima tolerada (DMT), los perfiles farmacocinéticos y farmacodinámicos, la seguridad y la actividad clínica del inhibidor de IDH2 (enasidenib). Entre los pacientes con LMA recaída o refractaria, la tasa de respuesta global fue del 40,3%, con una mediana de duración de la respuesta de 5,8 meses. Las respuestas se asociaron con la diferenciación y maduración celular, típicamente sin evidencia de aplasia. La mediana de SG fue de 9,3 meses, y para los 34 pacientes (19,3%) que alcanzaron la RC, la SG fue de 19,7 meses. El tratamiento continuo diario con enasidenib fue generalmente bien tolerado e indujo respuestas hematológicas en pacientes para quienes la terapia previa de LMA había fallado. Inducir la diferenciación de mieloblastos, no la citotoxicidad, parece impulsar la eficacia clínica de enasidenib⁽¹⁷⁾.

El venetoclax (ABT-199) es un inhibidor oral de BCL-2 altamente específico aprobado por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) para el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica. Recientemente se ha demostrado que venetoclax es efectivo en el tratamiento de

la LMA-RR o pacientes con LMA recién diagnosticados que no son elegibles para la quimioterapia intensiva. Los datos clínicos de la fase inicial han mostrado un efecto sinérgico en combinación con AHM⁽¹⁸⁾ (RCc: 61%, mediana de SG: 17,5 meses) al igual que combinado con dosis bajas de citarabina⁽¹⁹⁾ (62%; mediana OS: 11,4 meses) en pacientes ancianos con LMA de novo no elegibles para quimioterapia intensiva. Reconociendo las tasas notables de respuesta que superan los resultados históricos con monoterapia (5-AZA y citarabina) las combinaciones 5-AZA o decitabina + venetoclax y citarabina + venetoclax recibieron la aprobación rápida por la FDA. Actualmente se está llevando a cabo un ensayo clínico de fase III comparando contra la monoterapia con 5-AZA (www.clinicaltrials.gov #NCT02993523). También se está reclutando pacientes en un ensayo similar con citarabina en combinación con venetoclax (www.clinicaltrials.gov #NCT03069352).

Los inhibidores de HDAC son un grupo heterogéneo de moléculas que aumentan la acetilación de histonas promoviendo la transcripción de varios genes que median la diferenciación celular, la regulación del ciclo celular y la apoptosis. Varios estudios que utilizan inhibidores de HDAC como monoterapia para la LMA han mostrado resultados decepcionantes con tasas de respuesta inferiores al 20%. Estudios *in vitro*, mostraron un efecto sinérgico de los inhibidores de HDAC e HMA. Esto condujo a varios ensayos clínicos con combinación de ambos grupos drogas tanto en LMA como en SMD. Si bien la mayoría de los estudios que mostraron efectos sinérgicos han sido estudios de una sola rama, dos ensayos de fase II que combinan 5-AZA con inhibidores de HDAC (entinostat o vorinostat) no pudieron proporcionar ningún beneficio de sobrevida en comparación con la monoterapia con 5-AZA⁽²⁰⁻²¹⁾.

Queda por ver si los nuevos inhibidores de HDAC, como el belinostat, el pracinostat o el panobinostat, brindan algún beneficio adicional. Hasta ahora, los datos del estudio de fase II en pacientes de edad avanzada con LMA⁽²²⁾ (www.clinicaltrials.gov #NCT01912274) donde se combina el pracinostat con 5-AZA han mostrado una mediana de SG de 19,1 meses y una tasa de RC del 52% que excede los datos históricos para 5-AZA sola y ha llevado a iniciar un estudio fase III: 5-AZA ± pracinostat que actualmente se encuentra reclutando pacientes⁽²³⁾.

(www.clinicaltrials.gov #NCT03151408). Sin embargo, en pacientes con SMD de alto riesgo, la combinación de pracinostat y 5-AZA no logró mejorar los resultados. Este hecho estaría potencialmente relacionado con una mayor tasa de eventos adversos en el grupo de ambas drogas que llevó a una interrupción temprana del tratamiento.

Conclusiones

La terapia epigenética en la LMA es un campo de rápida evolución y muy prometedor en un futuro no muy lejano. La comprensión de los procesos epigenéticos subyacentes a la LMA aún es incompleta. Con una mayor disponibilidad de técnicas de diagnóstico, como la secuenciación de segunda generación, se está descubriendo un número cada vez mayor de mutaciones que afectan a los reguladores epigenéticos, pero su impacto preciso en el desarrollo de la LMA y su idoneidad como objetivos tera-

péuticos aún no se ha dilucidado.

Sin embargo, la identificación de estas mutaciones ya ha llevado al desarrollo y aprobación de medicamentos que se dirigen específicamente a estas mutaciones, lo que ha allanado el camino hacia un enfoque de tratamiento más individualizado para los pacientes con LMA. Sin embargo, quedan varias preguntas importantes por responder.

Las terapias combinadas con diferentes formas de terapias epigenéticas o terapias epigenéticas con inmunoterapia o con quimioterapia convencional prometen tasas de respuestas aún más altas, incluso en pacientes de edad avanzada y pacientes con LMA-RR, ya que apuntan a la proliferación celular a diferentes niveles. Sin embargo, se necesitan nuevos estudios para identificar biomarcadores que predigan la respuesta a la terapia y que guíen la selección de medicamentos para cada paciente en forma individual.

Conflictos de interés: La autora declara haber recibido honorarios por parte de Novartis y Varifarma por concepto de conferencias, actividades educativas y asesorías / consultorías en las que ha participado.

Bibliografía

1. Wouters BJ & Delwel R. Epigenetics and approaches to targeted epigenetic therapy in acute myeloid leukemia. *Blood*. 2016;127(1):42-52.
2. Goyama S, Kitamura T. Epigenetics in normal and malignant hematopoiesis: An overview and update 2017. *Cancer Sci*. 2017 ;108(4):553-562.
3. Meldi KM & Figueroa ME. Epigenetic Deregulation in Myeloid Malignancies. *Trans Res*. 2015;165(1):102-14.
4. Bewersdorf JP, Shallis R, Stahl M y col. Epigenetic therapy combinations in acute myeloid leukemia: what are the options? *Ther Adv Hematol*. 2019; 10: 1-19.
5. Meng HX, Hackett JA, Nestor C. Apoptosis and DNA Methylation. *Cancer*. 2011; 3:1798-1820.
6. Pronier E & Levine R. IDH1/2 Mutations and BCL-2 Dependence: An Unexpected Chink in AML's Armour. *Cancer*. 2015;27(3):323-5.
7. Gelsi-Boyer V, Brecqueville M, Devillier R, Murati A, Mozziconacci MJ, Birnbaum D. Mutations in ASXL1 are associated with poor prognosis across the spectrum of malignant myeloid diseases. *J Hematol Oncol*. 2012; 5: 12.
8. Inoue D, Matsumoto M, Nagase R et al. Truncation mutants of ASXL1 observed in myeloid malignancies are expressed at detectable protein levels. *Exp Hematol*. 2016; 44: 172-6.e1.
9. Micol JB, Duployez N, Boissel N et al. Frequent ASXL2 mutations in acute myeloid leukemia patients with t(8;21)/RUNX1-RUNX1T1 chromosomal translocations. *Blood*. 2014; 124: 1445-9.
10. Huls G. Azacitidine in AML: a treatment option? *Blood*. 2015;126(3):283-284.
11. Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E et al. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncol*. 2009; 10: 223-232.
12. Cashen AF, Schiller GJ, O'Donnell MR et al. Multi-center, phase II study of decitabine for the first-line treatment of older patients with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2010; 28:556-561.
13. Dombret H, Seymour JF, Butrym A et al. International phase 3 study of azacitidine vs conventional care regimens in older patients with newly diagnosed AML with 30% blasts. *Blood*. 2015;126(3):291-299.

14. Roboz GJ, Kantarjian HM, Yee KWL et al. Dose, schedule, safety, and efficacy of guadecitabine in relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Cancer*. 2018; 124:325-334.
15. Kantarjian HM, Roboz GJ, Kropf PL et al. Guadecitabine (SGI-110) in treatment-naïve patients with acute myeloid leukaemia: phase 2 results from a multicenter, randomised, phase 1/2 trial. *Lancet Oncol*. 2017; 18: 1317-1326.
16. DiNardo CD, Stein EM, de Botton S y col. Durable Remissions with Ivosidenib in IDH1-Mutated Relapsed or Refractory AML. *N Engl J Med*. 2018;378(25):2386-2398.
17. Stein EM, DiNardo CD, Pollyea DA y col. Enasidenib in mutant IDH2 relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Blood*. 2017; 130(6):722-731.
18. DiNardo CD, Rausch CR, Benton C et al. Clinical experience with the BCL2-inhibitor venetoclax in combination therapy for relapsed and refractory acute myeloid leukemia and related myeloid malignancies. *Am J Hematol*. 2018; 93: 401-407.
19. Wei A, Strickland SA, Roboz GJ et al. Phase 1/2 study of venetoclax with low-dose cytarabine in treatment-naïve, elderly patients with acute myeloid leukemia unfit for intensive chemotherapy: 1-year outcomes. *Blood*. 2017; 130: 890.
20. Prebet T, Sun Z, Figueroa ME et al. Prolonged administration of azacitidine with or without entinostat for myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia with myelodysplasia-related changes: results of the US Leukemia Intergroup trial E1905. *J Clin Oncol*. 2014; 32:1242-1248.
21. Sekeres MA, Othus M, List AF et al. Randomized phase II study of azacitidine alone or in combination with lenalidomide or with vorinostat in higher-risk myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukemia: North American intergroup study SWOG S1117. *J Clin Oncol*. 2017; 35: 2745-2753.
22. Garcia Manero G, Atallah E, Khaled SK et al. A phase 2 study of pracinostat and azacitidine in elderly patients with acute myeloid leukemia (AML) not eligible for induction chemotherapy: response and long-term survival benefit. *Blood*. 2016; 128: 100.
23. Garcia-Manero G, Montalban-Bravo G, Berdeja JG et al. Phase 2, randomized, doubleblind study of pracinostat in combination with azacitidine in patients with untreated, higher risk myelodysplastic syndromes. *Cancer*. 2017; 123: 994-1002.



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.

Métodos para detectar la enfermedad mínima residual

Methods to detect minimal residual disease*

Torsten Haferlach, Ines Schmidts
MLL Munich Leukemia Laboratory, Munich, Germany

torsten.haferlach@mll.com

*A short form of this article was already published in: EHA23 Educational Updates in Hematology Book: Haferlach T. Methods to detect minimal residual disease. HemaSphere 2018; 2(S2):160-161.



IV SIMPOSIO
CONJUNTO EHA - SAH

HEMATOLOGÍA
Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 337-345
Octubre 2019

Palabras claves: enfermedad mínima residual, citometría de flujo multiparámetro, métodos moleculares.

Keywords: minimal residual disease, multi-parameter flow-cytometry, molecular methods.

Introduction

Minimal residual disease (MRD, also now called measurable residual disease in some publications) is of increasing importance in hematologic malignancies. It has been demonstrated to be an independent, post-diagnosis, prognostic indicator for several leukemias including AML and ALL and is of increasing and new importance for CLL and multiple myeloma (Table 1)⁽¹⁻⁵⁾. It is the backbone for treatment strategies in CML⁽⁶⁾. Its results provide important information for risk stratification and treatment planning. MRD can be evaluated by multi-parameter flow-cytometry (MFC) and by molecular techniques. However, standardization, qualitatively as well as quantitatively, still needs a lot of efforts for broad application and routine clinical use in several diseases. Although many publications have proven the power of MRD measurement by either MFC or mo-

lecular techniques, before or even after allogeneic stem cell transplantation (SCT), additional studies implementing this tools for adapted treatment strategies are warranted. No new study should start without at least the option to study MRD.

Current state-of-the-art

• Overview

The diagnostics and treatment options of hematological malignancies have been conjointly optimized over the last decades. Improved and novel treatments lead to deeper responses and to better patient outcome, and provide challenges in measuring said responses. This encouraging development has led to a diagnostic shift: from phenotype to genotype. While morphology-based methods have a sensitivity of 1:20⁽¹⁾, the current state-of-the-art

techniques for assessment of residual disease, MFC or molecular methods, demonstrate a sensitivity of $1:10^4$ to $1:10^6$ and thus also supersede chromosome analysis and FISH.

Several approaches are used and have been published to definitely detect the malignant cells. In MFC there are in general two strategies for MRD assessment: the leukemia associated immunophenotype (LAIP) and the different-from-normal-approach (DfN). For molecular techniques there is an even broader method diversity. While the current gold standard is the real-time quantitative polymerase chain reaction (qPCR), newer techniques are being tested for broad clinical applications such as digital PCR (dPCR) or next generation sequencing (NGS)⁽¹⁾.

Harmonization of protocols as well as of antibody combinations for MFC can be implemented. Individual, laboratory based strategies, however, still are much more often applied.

• *Multi-parameter flow-cytometry*

One of the two approaches of MRD analysis by MFC relies on the detection and knowledge of the respective character of the leukemic cells at diagnosis, leading to the definition of the so called “leukemia associated immunophenotype (LAIP)”, while the “different-from-normal-approach” relies on the knowledge of normal bone marrow and differences from this detected at the time of MRD assessment. Aberrant immunophenotypes can be categorized into⁽⁷⁾:

- Cross-lineage antigen expression (e.g. expression of lymphoid markers in AML (such as CD19+ AML))
- Maturational asynchronous antigen expression (i.e. concomitant expression of immature and mature markers (e.g. coexpression of CD34 and CD11b in AML))
- Reduction or absence of typical markers (e.g. HLA-DR-negative AML)
- Antigen overexpression (e.g. CD33++ CD34++ AML)

Different panels at diagnosis have to be used for the respective disease entities and normally include several additional, specific CD markers in addition to the mandatory markers for diagnosis. This leads to a much higher sensitivity and specificity for follow-up investigations. In acute leukemias also sev-

eral different combinations of CD markers can lead to more than one LAIP, even increasing sensitivity. Based on the definition of the specific characteristics of these specific leukemia cells of the individual patient, MRD by MFC, at least for acute leukemias should be based on a minimum of 8 colors, and can widely be used in dedicated laboratories. Several guidelines have been published in the last years to support antibody selection, read out and reporting^(8,9). If possible, peripheral blood and bone marrow should be investigated at diagnosis, both materials could also be used at follow-up. Samples can be analyzed up to 72 hours after drawing, however, shorter travel times should be preferred. Standardization of gating as well as analysis and report should be improved. If possible, MRD studies by MFC should be implemented in all future clinical studies, especially to foster post-remission treatment strategies, proactively including or excluding transplantation for the respective patient based on his MRD level^(2,10-16).

• *Molecular techniques*

Increasing efforts have been undertaken to standardize molecular techniques for MRD, especially in CML by introducing the International Scale (IS) and standardized ring trials. Several ELN guidelines have been demonstrated to serve as best treatment stratification information^(6,17). Also in ALL, post-remission MRD has proven to be of important clinical relevance. Due to the increasing knowledge about molecular markers in hematology new targets for MRD have been detected and need further clinical evaluation. The sensitivity of molecular methods is in most cases comparable to MFC, in some diseases or in comparison to some antibody-combinations vs. molecular markers the one or the other technique is superior and has to be defined for the individual patient and its leukemic cells at diagnosis in comparison.

(Potential) molecular MRD markers can be divided into four different categories^(1,2):

- fusion gene transcripts (e.g. *BCR-ABL1*)
- gene mutations (e.g. mutated *NPM1* in AML)
- gene rearrangements (e.g. immunoglobulin/T cell receptor gene rearrangements for MRD assessment in lymphoid neoplasms)
- gene expression levels (e.g. *WT1* in AML)

For MRD diagnostics the most relevant molecular

methods are PCR-based techniques and next generation sequencing. Quantitative real-time PCR (qPCR) currently represents the gold standard in routine MRD diagnostics due to its high sensitivity, which varies between 0.001% and 0.1% mutational load, depending on the respective mutation. Allele-specific qPCR strategies enable the monitoring of mutations, while fusion gene transcripts as well as gene expression can be quantified by qPCR, after transcripts are reverse transcribed (RT) into cDNA (RT-qPCR).

While qPCR quantification relies on standard curves (relative quantification), a new and innovative PCR technique, called digital PCR allows for absolute quantification of target sequences. The sample is compartmentalized into smaller PCR reaction volumes, some of which contain no template molecules. In contrast to qPCR, the PCR reaction is not followed in real-time. Instead fluorescence readout is performed after endpoint PCR. The readout is binary (signal or no signal). To account for PCR reaction volumes that contained more than one target molecule, a poisson correction factor is applied, when summing up the signals to allow for correct absolute quantification⁽¹⁸⁾.

Next generation sequencing is replacing the older Sanger sequencing technique more and more in the clinical routine. Sanger sequencing has a sensitivity of 10-20% mutational load and is therefore not suited for MRD diagnostics. Aside to the increased sensitivity of 1-3% mutational load, next generation sequencing allows for massive parallel sequencing. Panel based sequencing, for example, permits to analyze the mutational status of all known leukemia-associated genes. To improve sequencing depth, relevant gene segments are enriched prior to next generation sequencing either by targeted enrichment or amplicon deep sequencing.

New NGS applications are whole genome sequencing and whole exome sequencing, providing insight into molecular aberrations throughout the whole genome, or all protein coding genes, respectively. In addition to sequence variations, these techniques can also detect balanced gene rearrangements (potentially resulting in fusion genes) as well as chromosomal gain and losses.

In the context of MRD diagnostics, NGS is currently most valuable for evaluation of the molecular landscape and the identification of (potential) markers

for MRD. New and innovative strategies, such as the use of optimized polymerases for enrichment as well as the application of “unique molecular identifiers” together with improved bioinformatics analysis will pave the way for NGS as a method not to only identify, but to also sensitively monitor MRD markers⁽¹⁹⁾.

• Outlook

As many new molecular markers have been described in the last years, several prospective studies should be initiated to define and validate the best marker and its clinical relevance in MRD post-remission, for guiding indication to transplant as well as for post-transplant follow-up. In addition to RT-PCR, new techniques such as digital PCR and NGS based assays will show their clinical relevance in the next years to define not only the best MRD marker by molecular approaches, but also the respective most sensitive and reliable technique. Further guidelines in addition to those already published especially for CML and ALL but also for some markers in AML such as *NPM1*, are needed as well as bioinformatic support and definitions how to report results and how often and when MRD should be investigated. This is true for molecular techniques as well as for MFC. A recent review for AML summarizes state-of-the-art⁽¹⁾.

Implementation of MRD techniques

Table 1 gives an overview on which method is best suited to measure residual disease depending on the disease entity. Further details about the implementation and clinical utility are given in the following paragraphs.

• AML

Implementation of MRD methods in AML.

Whether the MRD status in AML is best determined by multi-color flow-cytometry or by molecular techniques depends on the AML subtype and/or the individual case. On the one hand, there are 11 genetically defined AML entities. Also there is a high incidence of molecular mutations in AML: in 96% of patients at least one driver mutation is detectable⁽²⁰⁾. On the other hand, not every mutation is a suitable marker, whether due to insufficient sensitivity in detection or for biological reasons. Mutations in *CEBPA*, *RUNX1*, *DDX41*, *GATA2* and *ANKRD26* might

be present in the germline and their somatic nature has to be confirmed prior to MRD assessment⁽¹⁾. For the mutations: *FLT3*-ITD, *FLT3*-TKD, *NRAS*, *KRAS*, *IDH1*, *IDH2*, *MLL*-PTD, there is a high probability of losses or amplifications upon relapse, thus those should not be used as sole MRD markers⁽¹⁾. Mutations in *ASXL1*, *TET2* and *DNMT3A* are associated with age dependent clonal hematopoiesis and often persist during AML treatment, therefore they should not be considered as suitable MRD markers. Expression level analysis of *WT1* and *EVII* are also not recommended by the European LeukemiaNet MRD Working Party as (sole) MRD markers⁽¹⁾. Currently, *RUNX1-RUNX1T1*, *CBFB-MYH11*, *PML-RARA* and *NPM1*-mutations represent ideal molecular markers in MRD diagnostics⁽¹⁾. MFC is a valuable tool to complement MRD assessment, not only for cases that are not suitable for MRD monitoring by molecular techniques. Using 8- to 10-color flow-cytometry aberrant immunophenotypes were detectable at diagnosis for 90% of AML patients⁽⁷⁾.

derwent allogeneic transplantation⁽²⁵⁾.

In addition, there is evidence that stratification of patients with AML with t(8;21)/*RUNX1-RUNX1T1* or with mutated *NPM1* based on their MRD status after induction and consolidation therapy can identify those most likely to benefit from allogeneic stem cell transplantation⁽²⁶⁾ and/or therapy with high dose cytarabine⁽²⁷⁻²⁹⁾.

• ALL

Implementation of MRD methods in ALL. The ideal method for MRD assessment has to be determined individually. Several ALL subtypes are genetically defined by a pathogenic fusion gene (e.g. *BCR-ABL1* positive ALL). The expression of said fusion genes can be measured by RT-qPCR and fusion transcripts represent sensitive and reliable MRD markers. In the absence of fusion genes, the detection and quantification of patient-specific clonal rearrangements of immunoglobulin genes or T cell receptor genes provides another possibility for molecular MRD assessment, and is applicable for >

Table 1. Methods to detect MRD according to disease entities

Method (MRD)	Sensitivity	AML	ALL	CML	CLL	Myeloma
Multi-parameter flow-cytometry	1:10 ⁴ – 1:10 ⁶	+	+	-	+	+
Molecular approaches	1:10 ⁴ – 1:10 ⁶	+	+	+	(-)	(-)

For both methods, however, standardization is necessary to improve and harmonize MRD diagnostics and to establish clear criteria for AML management⁽¹⁾.

Clinical value of MRD assessment in AML. Independent from the method used to detect MRD, MRD positivity in AML is associated with increased relapse risk and reduced survival^(1,21-23).

In some cases, MRD detection already serves as valuable decision making tool in AML. Pre-emptive arsenic trioxide therapy reduced the relapse risk of MRD positive patients with APL (*PML-RARA*)⁽²⁴⁾. Pre-emptive therapy using donor lymphocyte infusions (DLI) ± hypomethylating agents is indicated when MRD positivity is detected in patients that un-

95% of patients⁽²⁾. It has been shown for *BCR-ABL1* positive ALL that the results from both molecular methods complement each other^(30,31), thus, if applicable, the parallel use of both strategies might provide valuable information. In addition, minimal residual disease in ALL can also be assessed by MFC.

Clinical value of MRD assessment in ALL. MRD has a well-established role in adult ALL as the strongest independent prognostic factor at any time during or after treatment⁽²⁾. MRD assessment even allows for patient stratification, as patients who achieve an early molecular complete remission during induction therapy (defined as MRD negativity) have a very favorable prognosis⁽³²⁾. In contrast,

persistent MRD positivity or molecular relapse after consolidation phase 1 are associated with a higher risk of relapse⁽³³⁾. While these criteria identify a subgroup of patients that profit from SCT⁽³³⁾, there are studies that show that pre-SCT MRD status and disease kinetics still retain their prognostic value in the SCT setting^(34,35).

Currently, post-SCT relapse detection is routinely performed by chimerism analysis. Studies that evaluate the clinical utility of MRD assessment post-SCT are few, however, they show that MRD status correlated with outcome and relapse risk^(36,37). In addition, MRD may be able to detect early relapses earlier and in a more specific manner than chimerism analysis⁽³⁸⁾.

• CML

CML is a model case for a genetically defined disease entity and highlights how improved treatment (by the introduction of tyrosine kinase inhibitors (TKI)), results in better and deeper responses, and thus also warrants advances in capturing residual disease.

Implementation of MRD methods in CML. Assessment of response and MRD in CML relies strongly on the measurement of *BCR-ABL1* transcript levels using reverse transcription quantitative PCR (RT-qPCR) to determine *BCR-ABL1* transcript levels. Due to standardization and introduction of the International Scale (IS), a harmonized definition of molecular responses now guides CML management.

Clinical value of MRD assessment in CML. A 3-log reduction of *BCR-ABL1* ($BCR-ABL1^{IS} \leq 0.1\%$) transcript levels is considered a major molecular response (MMR), and should be achieved within 12 months of TKI therapy start. A “warning” is issued, if transcript levels are between 0.1 and 1%, *BCR-ABL1*^{IS} levels above 1% constitute a “failure”. Loss of MMR (in two consecutive tests) at any time is also considered a therapy failure, and should trigger *BCR-ABL1* mutational testing and change of TKI⁽⁶⁾.

Given the high sensitivity of RT-qPCR, “deep” molecular responses (MR) have been defined and are indicated by the log reduction in uppercase (e.g. MR^{4.5}). Such deep molecular responses in CML

have served as a study end point in the evaluation of nilotinib⁽³⁹⁾ and are a prerequisite for participation in a TKI stop study⁽⁴⁰⁾.

• CLL

Implementation of MRD methods in CLL. MRD in CLL can be monitored either by MFC or molecular techniques, such as allele-specific oligonucleotide PCR or a next generation sequencing approach⁽⁴¹⁾. Both molecular methods assess the individual clonal IG-rearrangement, its determination at time of diagnosis is a prerequisite for subsequent response and MRD monitoring⁽⁴²⁾. Blood sampling for MRD detection might be prone to artifacts, since certain therapies (e.g. monoclonal antibodies) preferentially lead to clearance in the blood, but not in the bone marrow. In such cases, additional marrow samples may be important for determination of a reliable MRD status⁽⁴¹⁾.

Clinical value of MRD assessment in CLL. In CLL, MRD status is a valuable prognostic indicator after chemotherapy and MRD positivity is associated with a decrease in progression free survival (PFS) and overall survival (OS)⁽⁴³⁻⁴⁶⁾. Currently, the MRD status has no clinical implications, however, there is discussion as to whether therapy decisions should be based on MRD assessment⁽⁴²⁾.

• Myeloma

Implementation of MRD methods in multiple myeloma. In the past, the main approach to measure residual disease in multiple myeloma was the quantification of monoclonal protein or the detection of residual myeloma cells by cytological assessment of bone marrow⁽⁴⁷⁾. However, as of recently, modern flow-cytometry and/or next generation sequencing enable the detection of a residual plasma cell in up to 10⁶ bone marrow cells and allow for sensitive MRD detection in multiple myeloma^(48,49). Imaging techniques should complement MRD assessment, since bone marrow based MRD examinations are not able to detect extramedullary disease⁽⁴⁷⁾. The response criteria of the International Myeloma Working Group (IMWG) accordingly distinguish between different types of MRD negativity: *Flow MRD negativity* (absence of immunophenotypically aberrant plasma cells in bone marrow aspirates), *Sequencing MRD negativity* (absence of clonal plasma cells in

bone marrow aspirates detected by NGS) and *Imaging MRD negativity* (MRD negativity demonstrated by MFC or NGS AND absence of residual disease in PET-CT imaging)⁽⁴⁹⁾.

Clinical value of MRD assessment in multiple myeloma. MRD negativity is associated with prolonged survival (PFS and OS)^(48,50). Despite its prognostic importance, MRD diagnostics has no clinical relevance for multiple myeloma as of yet. However, MRD detection is discussed or used as study end point^(47,51). Further studies have to elucidate whether MRD triggered therapy improves patient outcome^(47,52).

Future perspectives

MRD by immunophenotyping or by molecular techniques will gain much more influence in post-remission strategies for hematological malignancies in the next years. Both techniques have advantages as well as disadvantages, however, combining (if applicable) both approaches might improve prognostic evaluation.

This notion is underlined by a recent case study in AML. The concomitant use of molecular and MFC based MRD detection identified a higher proportion of patients that are at risk of relapse than either one method. Concordant results were obtained for 69.1% of the patients. In cases where MRD positivity was demonstrated by MFC and molecular testing, the relapse risk was 73.3%. In comparison, if MRD positivity was detected solely by either one method the relapse risk was ~50%⁽⁵³⁾. In the study by Jongen-Lavrencic and colleagues molecular MRD markers were identified by panel based NGS testing, with a panel comprised of 54 genes associated with myeloid neoplasms. With the exception of mutations in *DNMT3A*, *TET2* and *ASXL1*, which are associated with age related clonal hematopoiesis, detection of any mutation served as suitable marker for MRD assessment, with high prognostic relevance for the estimation of relapse risk and survival⁽⁵³⁾.

In multiple myeloma a small study for the validation of NGS based determination of the IGH “clonotype” compared this novel approach to MFC for 66 patients. Results were concordant in 89%. However, patients with discordant results (MRD positivity detected by either method) had an intermediate pro-

gression free survival (of 46 months) in comparison to a PFS of 32 months for concordant MRD detection. This end point was not reached for cases with “double-negative” MRD⁽⁵⁴⁾.

In the years to come, our knowledge on how to stratify patients to the best MRD technique(s) to monitor response and residual disease during treatment and in remission will continue to grow. Concomitantly, with clear definition of response and MRD criteria (as in CML), MRD assessment might also gain more importance as a clinical decision making tool. It may facilitate the clinical decision to transplant or not to transplant in first CR or in later CR. Further, therapeutic approaches after allogeneic transplantation such as the use of DLI, can be guided by MRD. Further, as demonstrated by CML already, MRD levels can lead to stop treatment or avoid further chemotherapy, which automatically reduces side effects for the patient.

It is foreseeable that the use and the clinical importance of MRD studies, in clinical trials but also in daily practice, will not only lead to more specific, individualized treatment and patient follow-up, but also reduce toxicity and costs. Therefore, efforts should be taken much more to define the respective and best technique to use for MRD to improve patients care and also to reduce costs in hematology in the next years.

The advance of whole exome and whole genome sequencing will also help to expand our knowledge on mutational landscape and identify new potential markers for MRD assessment. For lymphoid diseases without bone marrow involvement, liquid biopsy might enable molecular detection of MRD in the future based on samples of peripheral blood – and with higher sensitivities than the currently used imaging techniques⁽⁵⁵⁾.

Recommended readings

Schuurhuis GJ, Heuser M, Freeman S et al. Minimal/measurable residual disease in AML: consensus document from ELN MRD Working Party. *Blood*. 2018;131(12):1275-1291.

State-of-the-art review on MRD in AML.

Bruggemann M, Kotrova M. Minimal residual disease in adult ALL: technical aspects and implications for correct clinical interpretation. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2017;2017(1):13-21.

State-of-the-art review on MRD in ALL.

Baccarani M, Deininger MW, Rosti G et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood*. 2013;122(6):872-884.

Recommendations on MRD in CML.

Buckley SA, Wood BL, Othus M et al. Minimal re-

sidual disease prior to allogeneic hematopoietic cell transplantation in acute myeloid leukemia: a meta-analysis. *Haematologica*. 2017;102(5):865-873. MRD to guide therapy in AML.

Short NJ, Jabbour E. Minimal Residual Disease in Acute Lymphoblastic Leukemia: How to Recognize and Treat It. *Curr Oncol Rep*. 2017;19(1):6. Treatment relevance in ALL based on MRD.

Conflictos de interés: El Dr Torsten Haferlach declara haber recibido honorarios por parte de Illumina por concepto de conferencias y actividades educativas en las que ha participado. La Dra Ines Schmidts declara no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

- Schuurhuis GJ, Heuser M, Freeman S et al. Minimal/measurable residual disease in AML: consensus document from ELN MRD Working Party. *Blood*. 2018;131(12):1275-1291.
- Bruggemann M, Kotrova M. Minimal residual disease in adult ALL: technical aspects and implications for correct clinical interpretation. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2017;2017(1):13-21.
- Dimier N, Delmar P, Ward C et al. A model for predicting effect of treatment on progression-free survival using MRD as a surrogate endpoint in CLL. *Blood*. 2017;doi: 10.1182/blood-2017-06-792333. [Epub ahead of print].
- Thompson M, Brander D, Nabhan C, Mato A. Minimal Residual Disease in Chronic Lymphocytic Leukemia in the Era of Novel Agents: A Review. *JAMA Oncol*. 2017;doi: 10.1001/jamaoncol.2017.2009. [Epub ahead of print].
- Galtseva IV, Davydova YO, Kapranov NM, Julhakyan HL, Mendeleeva LP. Minimal residual disease in multiple myeloma: Benefits of flow cytometry. *Int J Lab Hematol*. 2018;40(1):12-20.
- Baccarani M, Deininger MW, Rosti G et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood*. 2013;122(6):872-884.
- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al. 2017, 4th ed. International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon.
- Theunissen P, Mejstrikova E, Sedek L et al. Standardized flow cytometry for highly sensitive MRD measurements in B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2017;129(3):347-357.
- Lacombe F, Bernal E, Bloxham D et al. Harmonemia: a universal strategy for flow cytometry immunophenotyping-A European LeukemiaNet WP10 study. *Leukemia* 2016;30(8):1769-1772.
- Walter RB, Buckley SA, Pagel JM et al. Significance of minimal residual disease before myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation for AML in first and second complete remission. *Blood*. 2013;122(10):1813-1821.
- Stahl T, Bohme MU, Kroger N, Fehse B. Digital PCR to assess hematopoietic chimerism after allogeneic stem cell transplantation. *Exp Hematol*. 2015;43(6):462-468.
- Valcarcel D, Martino R, Caballero D et al. Chimerism analysis following allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning. *Bone Marrow Transplant*. 2003;31(5):387-392.
- Alizadeh M, Bernard M, Danic B et al. Quantitative assessment of hematopoietic chimerism after bone marrow transplantation by real-time quantitative polymerase chain reaction. *Blood*. 2002;99(12):4618-4625.
- Brambati C, Galbiati S, Xue E et al. Droplet digital polymerase chain reaction for DNMT3A and IDH1/2 mutations to improve early detection of acute myeloid leukemia relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica*. 2016;101(4):e157-e161.
- Buckley SA, Wood BL, Othus M et al. Minimal residual disease prior to allogeneic hematopoietic cell transplantation in acute myeloid leukemia: a meta-analysis. *Haematologica*. 2017;102(5):865-873.
- Short NJ, Jabbour E. Minimal Residual Disease in Acute Lymphoblastic Leukemia: How to Recognize

- and Treat It. *Curr Oncol Rep.* 2017;19(1):6.
17. Hoffmann VS, Baccarani M, Hasford J et al. Treatment and outcome of 2904 CML patients from the EUTOS population-based registry. *Leukemia.* 2017;31(3):593-601.
 18. Dogliotti I, Drandi D, Genuardi E, Ferrero S. New Molecular Technologies for Minimal Residual Disease Evaluation in B-Cell Lymphoid Malignancies. *J Clin Med.* 2018;7(9).
 19. Thol F, Gabdoulline R, Liebich A et al. Measurable residual disease monitoring by NGS before allogeneic hematopoietic cell transplantation in AML. *Blood.* 2018;132(16):1703-1713.
 20. Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L et al. Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med.* 2016;374(23):2209-2221.
 21. Grimwade D, Freeman SD. Defining minimal residual disease in acute myeloid leukemia: which platforms are ready for "prime time"? *Blood.* 2014;124(23):3345-3355.
 22. Ossenkoppele GJ, van de Loosdrecht AA, Schuurhuis GJ. Review of the relevance of aberrant antigen expression by flow cytometry in myeloid neoplasms. *Br J Haematol.* 2011;153(4):421-436.
 23. Hourigan CS, Gale RP, Gormley NJ, Ossenkoppele GJ, Walter RB. Measurable residual disease testing in acute myeloid leukaemia. *Leukemia.* 2017;31(7):1482-1490.
 24. Grimwade D, Jovanovic JV, Hills RK et al. Prospective minimal residual disease monitoring to predict relapse of acute promyelocytic leukemia and to direct pre-emptive arsenic trioxide therapy. *J Clin Oncol.* 2009;27(22):3650-3658.
 25. Schroeder T, Czibere A, Platzbecker U et al. Azacitidine and donor lymphocyte infusions as first salvage therapy for relapse of AML or MDS after allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia.* 2013;27(6):1229-1235.
 26. Zhu HH, Zhang XH, Qin YZ et al. MRD-directed risk stratification treatment may improve outcomes of t(8;21) AML in the first complete remission: results from the AML05 multicenter trial. *Blood.* 2013;121(20):4056-4062.
 27. Shayegi N, Kramer M, Bornhauser M et al. The level of residual disease based on mutant NPM1 is an independent prognostic factor for relapse and survival in AML. *Blood.* 2013;122(1):83-92.
 28. Ivey A, Hills RK, Simpson MA et al. Assessment of Minimal Residual Disease in Standard-Risk AML. *N Engl J Med.* 2016;374(5):422-433.
 29. Krönke J, Schlenk RF, Jensen KO et al. Monitoring of minimal residual disease in NPM1-mutated acute myeloid leukemia: a study from the German-Austrian acute myeloid leukemia study group. *J Clin Oncol.* 2011;29(19):2709-2716.
 30. Nagel I, Bartels M, Duell J et al. Hematopoietic stem cell involvement in BCR-ABL1-positive ALL as a potential mechanism of resistance to blinatumomab therapy. *Blood.* 2017;130(18):2027-2031.
 31. Hovorkova L, Zaliava M, Venn NC et al. Monitoring of childhood ALL using BCR-ABL1 genomic breakpoints identifies a subgroup with CML-like biology. *Blood.* 2017;129(20):2771-2781.
 32. Salek C, Folber F, Fronkova E et al. Early MRD response as a prognostic factor in adult patients with acute lymphoblastic leukemia. *Eur J Haematol.* 2016;96(3):276-284.
 33. Gokbuget N, Kneba M, Raff T et al. Adult patients with acute lymphoblastic leukemia and molecular failure display a poor prognosis and are candidates for stem cell transplantation and targeted therapies. *Blood.* 2012;120(9):1868-1876.
 34. Zhou Y, Slack R, Jorgensen JL et al. The effect of pretransplant minimal residual disease in adults with acute lymphoblastic leukemia undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2014;14(4):319-326.
 35. Bassan R, Spinelli O, Oldani E et al. Different molecular levels of post-induction minimal residual disease may predict hematopoietic stem cell transplantation outcome in adult Philadelphia-negative acute lymphoblastic leukemia. *Blood. Cancer J* 2014;4:e225.
 36. Bar M, Wood BL, Radich JP et al. Impact of minimal residual disease, detected by flow cytometry, on outcome of myeloablative hematopoietic cell transplantation for acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Res Treatment.* 2014;2014:421723.
 37. Zhao XS, Liu YR, Zhu HH et al. Monitoring MRD with flow cytometry: an effective method to predict relapse for ALL patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Ann Hematol.* 2012;91(2):183-192.
 38. Terwey TH, Hemmati PG, Nagy M et al. Comparison of chimerism and minimal residual disease monitoring for relapse prediction after allogeneic stem cell transplantation for adult acute lymphoblastic leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014;20(10):1522-

1529.

39. Hughes TP, Saglio G, Kantarjian HM et al. Early molecular response predicts outcomes in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase treated with frontline nilotinib or imatinib. *Blood*. 2014;123(9):1353-1360.
40. Laneuville P. When to Stop Tyrosine Kinase Inhibitors for the Treatment of Chronic Myeloid Leukemia. *Curr Treat Options Oncol*. 2018;19(3):15.
41. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood*. 2018;131(25):2745-2760.
42. Thompson PA, Wierda WG. Eliminating minimal residual disease as a therapeutic end point: working toward cure for patients with CLL. *Blood*. 2016;127(3):279-286.
43. Bottcher S, Ritgen M, Fischer K et al. Minimal Residual Disease Quantification Is an Independent Predictor of Progression-Free and Overall Survival in Chronic Lymphocytic Leukemia: A Multivariate Analysis From the Randomized GCLLSG CLL8 Trial. *J Clin Oncol*. 2012;30(9):980-988.
44. Dreger P, Dohner H, Ritgen M et al. Allogeneic stem cell transplantation provides durable disease control in poor-risk chronic lymphocytic leukemia: long-term clinical and MRD results of the German CLL Study Group CLL3X trial. *Blood*. 2010;116(14):2438-2447.
45. Moreton P, Kennedy B, Lucas GS et al. Eradication of minimal residual disease in B-cell chronic lymphocytic leukemia after alemtuzumab therapy is associated with prolonged survival. *J Clin Oncol*. 2005;23(13):2971-2979.
46. Wendtner CM, Ritgen M, Schweighofer CD et al. Consolidation with alemtuzumab in patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) in first remission--experience on safety and efficacy within a randomized multicenter phase III trial of the German CLL Study Group (GCLLSG). *Leukemia*. 2004;18(6):1093-1101.
47. Kumar SK, Rajkumar SV. The multiple myelomas - current concepts in cytogenetic classification and therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018;15(7):409-421.
48. Munshi NC, Avet-Loiseau H, Rawstron AC et al. Association of Minimal Residual Disease With Superior Survival Outcomes in Patients With Multiple Myeloma: A Meta-analysis. *JAMA Oncol*. 2017;3(1):28-35.
49. Kumar S, Paiva B, Anderson KC et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *Lancet Oncol*. 2016;17(8):e328-e346.
50. Lahuerta JJ, Paiva B, Vidriales MB et al. Depth of Response in Multiple Myeloma: A Pooled Analysis of Three PETHEMA/GEM Clinical Trials. *J Clin Oncol*. 2017;35(25):2900-2910.
51. Mateos MV, Dimopoulos MA, Cavo M et al. Daratumumab plus Bortezomib, Melphalan, and Prednisone for Untreated Myeloma. *N Engl J Med*. 2018;378(6):518-528.
52. Anderson KC, Auclair D, Kelloff GJ et al. The Role of Minimal Residual Disease Testing in Myeloma Treatment Selection and Drug Development: Current Value and Future Applications. *Clin Cancer Res*. 2017;23(15):3980-3993.
53. Jongen-Lavrencic M, Grob T, Hanekamp D et al. Molecular Minimal Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 2018;378(13):1189-1199.
54. Martinez-Lopez J, Sanchez-Vega B, Barrio S et al. Analytical and clinical validation of a novel in-house deep-sequencing method for minimal residual disease monitoring in a phase II trial for multiple myeloma. *Leukemia*. 2017;31(6):1446-1449.
55. Corcoran RB, Chabner BA. Application of Cell-free DNA Analysis to Cancer Treatment. *N Engl J Med*. 2018;379(18):1754-1765.



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.

Prevención de recaídas en trasplante de progenitores hematopoyéticos

Relapse prevention in hematopoietic stem cell transplantation

Jarchum G

Sanatorio Allende, Córdoba, Argentina

gjarchum@yahoo.com



IV SIMPOSIO
CONJUNTO EHA - SAH

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 346-353
Octubre 2019

Palabras claves: trasplante progenitores hemato
poyeticos,
recaídas,
leucemias agudas.

Keywords: hematopoietic stem cell transplants,
relapse,
acute leukemias.

Prevención de recaídas trasplantes autólogos de progenitores hematopoyéticos (TPAUTO)

La consolidación con TPAUTO es una alternativa terapéutica con potencial curativo en linfomas recaídos/refractarios y prolonga la sobrevida en pacientes con mieloma. Sin embargo, las recaídas post trasplante son frecuentes y son la principal causa de fracaso del mismo.

EL fundamento del TPAUTO es exponer al paciente y a su enfermedad a altas dosis mieloablativas de agentes quimioterápicos con distintos mecanismos de acción, potencialmente sinérgicos y sin toxicidad superponible, con rescate con sus propios progenitores hematopoyéticos.

Para disminuir la recaída se ha trabajado a dos niveles.

- *Mejorar el condicionamiento mieloablativo*

o Linfomas

o La base de los esquemas son los agentes alquilantes combinados (melfalán, carmustina, busulfán,

ciclofosfamida, thiotepa, bendamustina) que no tienen resistencia cruzada y que han demostrado una curva logarítmica en dosis respuesta, también combinados con agentes que inhiban la división celular, la síntesis y reparación del DNA (etopósido, citarabina, gemcitabina). Las combinaciones más usadas para pacientes con linfomas son BEAM (BCNU, etopósido, citarabina, melfalán) CBV (carmustina, ciclofosfamida, etopósido). Menos frecuente BUCY (busulfán, ciclofosfamida) y combinaciones con irradiación corporal total (TBI). En un estudio del Registro Internacional de Trasplante de Médula Ósea (CIBMTR) se evaluaron los diferentes esquemas de condicionamiento para linfomas en el período 1995-2008 en 4917 pacientes (LNH: 3917, LH: 1012) con respecto a mortalidad relacionada al tratamiento (MRT), desarrollo de neumonía intersticial idiopática (NII), sobrevida global (SG) y sobrevida libre de progresión (SLP). 35% usaron el

régimen BEAM, 38% CBV, 16% BUCY, 11% TBI. La MRT fue similar, NII tuvo mayor incidencia en TBI y CBV con altas dosis de carmustina; CBV con dosis normales de carmustina produjo mejor SG en linfoma folicular. BEAM fue régimen más eficaz para LH. Muchos han sido los esfuerzos para construir sobre los diversos regímenes. Debido a que carmustina es la más responsable de la NII y a que hubo limitaciones en su disponibilidad, se trató de reemplazarla por lomustina, thiotepa, bendamustina, mitoxantrona o fotemustine; en estudios retrospectivos no hubo diferencias significativas en cuanto a sobrevida global. Sí hubo variación en los perfiles de toxicidad. Otros esquemas de condicionamiento han incluido BUCY etopósido, MITO MEL, ETO MEL, BUMEL y GENBUMEL (gemcitabina, busulfán, melfalán). También se incorporó en el condicionamiento la radioinmunoterapia; en un estudio randomizado multicéntrico se comparó el condicionamiento de pacientes con linfoma difuso a células grandes sensibles a tratamiento entre R-BEAM, y ¹³¹I tositumomab-BEAM. No hubo diferencias en SLP o SG. En nuestro medio se ha explorado el condicionamiento BeCV ⁽¹⁾ y el condicionamiento GENBUMEL ⁽²⁾ en dos estudios fase II como alternativa a CBV y BEAM; en ambos se constató la posibilidad de reemplazar a los regímenes clásicos. Existe una carencia de estudios controlados en esta área. Recomendamos una excelente revisión de Dahi P et al ⁽³⁾.

o Trasplantes en tándem

- La posibilidad de realizar trasplante doble en un lapso menor de 6 meses en pacientes con linfoma de Hodgkin con alto riesgo de recaída ha sido explorada. Varios estudios fase II fueron realizados, con SG y SLP aparentemente mejores para este escenario; sin embargo, el grupo Francés reportó un aumento de incidencia de MRT. Un estudio más reciente por el US Intergroup SWOG/BTN trató 98 pacientes con LH refractarios primarios y recaídos a tándem con: 1° melfalán 150mg/m² y 2° con CBV o TBI; no hubo aumento de MRT y en el seguimiento de 5 años la SLP y la SG fueron de 55% y 84% respectivamente. Estos resultados justifican un estudio randomizado, ya que muestran un aumento de 15% con los resultados históricos de TPAUTO simple y se comparan con los resultados del AETHERA con mantenimiento con brentuximab en población similar ⁽⁴⁾.

- *Tratamiento de mantenimiento post trasplante o L Hodgkin.* En pacientes recaídos de alto riesgo o refractarios, el estudio AETHERA, aleatorizado a brentuximab vedotin por 16 ciclos versus placebo mostró una SLP media de 43 vs 24 meses con HR de 0.57, p 0.001. Este beneficio se observó en todos los subgrupos. No hubo diferencias en sobrevida ⁽⁵⁾.

- o *LDCGB.* El estudio fase III Coral tuvo una segunda randomización de mantenimiento con rituximab versus observación; los resultados no mostraron mejoría en SLE ni SG y hubo más toxicidad en la rama rituximab ⁽⁶⁾.

- Linfoma folicular.* EBMT en un estudio fase III investigó el valor del uso de rituximab pretrasplante (con purga in vivo) y como mantenimiento (375 mg/m² cada 2 meses x 4); si bien el primero no mostró utilidad el mantenimiento, tuvo un efecto significativo en SLP a 10 años 54% vs 37%, HR 0.66, p 0.012, pero sin mejoría en SG ⁽⁷⁾.

- o *Linfoma del manto.* El grupo cooperativo francés randomizó pacientes < de 66 años a mantenimiento con rituximab (375 mg/m² cada 2 meses por 3 años) vs control; la SLP a 4 años fue de 83% vs 64%, p <0.001 y la SG de 89% y 80%, p0.04 ⁽⁸⁾.

Mieloma múltiple Condicionamiento

- Muchos han sido los esfuerzos para mejorar la eficacia del condicionamiento estándar con melfalán 200 mg/m²: el aumento de dosis a 280 mg/m², el agregado de bortezomib, la combinación de altas dosis de gemcitabina con busulfán y melfalán en estudios no aleatorizados, sin llegar a conclusiones de eficacia y toxicidad. Sólo un estudio reciente aleatorizado comparando melfalán 200 mg versus busulfán EV (AUC 5000 mmol/°) + melfalán 140 mg/m² mostró una SLP media de 64.7 vs 43.5 meses para la combinación con un HR de 0.53, p 0.02, pero con mayor toxicidad mucosa y aparente igual respuesta en alto riesgo y bajo riesgo ⁽⁹⁾.

Mieloma Multiple. Trasplantes tándem

El doble trasplante en pacientes con MM, ha tenido resultados controversiales y más aun en la era de nuevas drogas. Dos últimos estudios agregan datos a la controversia. El StaMINA Trial comparó TPAUTO doble vs único vs único + consolidación con VRD por 4 ciclos; todos con mantenimiento con

lenalidomida. Con un seguimiento a 38 meses no hubo diferencia en SLP ni SG ⁽¹⁰⁾. Por el contrario, el estudio fase III EMN02/H095 comparó en segunda aleatorización TPAUTO doble vs único y mostró una SLP y SG a 3 años de 73% vs 64% y 89 vs 82% con HR 0.7 y 0.5 con p 0.04 y 0.01 respectivamente. Esta ventaja del doble TPAUTO se acentuó en el subgrupo de alto riesgo citogenético ⁽¹¹⁾. En conclusión, el TPAUTO/tándem podría ser una alternativa en el grupo de alto riesgo.

Mieloma Multiple. Mantenimiento

o Lenalidomida post TPAUTO. Un meta análisis reciente de los 3 estudios controlados más importante sobre 1208 pacientes mostró que la SLP fue de 53 meses vs 23.5, HR 0.48 ; con un seguimiento medio de 79 meses la SG media no fue alcanzada para lenalidomida y fue de 86 meses para el grupo placebo/observación, HR 0.75, p 0.01, demostrando un beneficio tanto en SLG como SG (12). El beneficio no fue tan claro en el grupo de alto riesgo citogenético o ISS-3. Un estudio controlado reciente, Mieloma XI trial, con 1900 pacientes mostró también mejoría en SLP y SG en pacientes trasplantados con lenalidomida, aun los de alto riesgo citogenético ⁽¹³⁾. Recientemente el estudio TOURMALINE 3, que comparó ixazomib oral por 2 años versus placebo en mantenimiento en pacientes con mieloma múltiple post trasplante, mostró una SLP de 26.5 vs 21 meses, HR 0.72, p= 0.001; este beneficio se vio en población ISS3 y en citogenética de alto riesgo, sin incremento en segundos tumores o neurotoxicidad ⁽¹⁴⁾.

Prevención de recaídas en trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (TPALO)

En los últimos años en TPALO ha habido avances importantes en relación a las terapias de apoyo, disponibilidad de donantes, mejor selección de los mismos y condicionamientos de intensidad reducida que han llevado a mayor número de trasplantes y disminución de la mortalidad relacionada al trasplante (MRT); sin embargo, no ha habido mejoras en tasas de recaídas, que se mantienen en un promedio del 40%, siendo ésta la causa más importante de fracaso de TPALO, por demás frustrante teniendo en cuenta el potencial rol curativo del mismo en la terapia de leucemias graves. A ello se suma el mal

pronóstico en pacientes que recaen.

El TPALO actúa por dos mecanismos: reducción de la carga tumoral por el régimen condicionante y el efecto de injerto vs tumor por las células del donante. Este último mecanismo llevó a la utilización de regímenes de intensidad reducida o no mieloablativos. Aunque éstos últimos expandieron la utilización de T-ALO en pacientes con comorbilidades o adultos mayores, también aumentaron la posibilidad de recaídas.

Factores pronósticos en LMA MDS y LLA con alto riesgo de recaída:

- Citogenética de alto riesgo
- Mutaciones de alto riesgo
- Retardo en conseguir RC
- Enfermedad activa pretrasplante molecular o hematológica
- Índice de riesgo por enfermedad (DRI)

Fisiopatología de las recaídas

Los responsables de la mortalidad temprana en T-ALO son infecciones y EICH agudo; sin embargo, después de los 100 días la causa más importante son las recaídas. Si bien hay varios factores que predisponen a recaída, que incluye la quimiorresistencia al esquema de condicionamiento, el más importante es la evasión inmunológica de las células T que estaban controlando la enfermedad.

Existen varios mecanismos posibles por los cuales se produce este escape inmunológico ⁽¹⁵⁾:

- *Dificultad para reconocer a la célula leucémica*
- o La eliminación de las células leucémicas post T-ALO depende de dos grupos celulares: células T y células NK; las primeras se activan tras el reconocimiento de péptidos a través del HLA, mientras que las células NK se activan ante la ausencia de HLA tipo I en células tumorales. Se ha evidenciado que la pérdida del HLA no compatible en blastos se asocia a recaída. Esta pérdida genómica se realiza a través de un mecanismo llamado copia-neutra pérdida de heterocigocidad que elimina el HLA incompatible sin disminuir la expresión de HLA tipo I, lo que explica por qué no se activan las células NK. Recientes estudios muestran que esto ocurre en la clínica; sobre todo se ha dado en haploidénticos (33%) y no relacionado, y también se presenta en histoidéntico ⁽¹⁶⁾. Un estudio reciente mostró que el 50% de pacientes trasplantados tenía una disminu-

ción de 3 a 12 veces de la expresión de moléculas HLAII en la recaída ⁽¹⁷⁾. La importancia de discernir este mecanismo es que puede ser reactivado con el uso de interferón gamma.

- *Moléculas que activan los puntos de chequeo inmune*

Existe un aumento de la expresión de PDL1 en células leucémicas en recaída post trasplante, que se relaciona con una expresión concurrente de PD1 en linfocitos T, con un perfil de agotamiento.

- *Modulación de la producción de citoquinas anti y pro inflamatorias*

o Citoquinas antiinflamatorias producidas por células leucémicas/linfoma como IL4-IL10-TGF- β , contribuyen a la evasión inmune. Citoquinas pro inflamatorias como interferón gamma, que aumenta la expresión de moléculas HLAII, e IL15, que expande y activa células T y NK, se hallan muy disminuidas en LMA FLT3-ITD.

- *Enzimas mediadoras de inmunosupresión*

o Células leucémicas pueden producir enzimas como IDO1 que interviene en el metabolismo del triptófano que puede inhibir la función de linfocitos T. La sobreexpresión de CD73 y CD39, ectonucleotidasas que intervienen en el metabolismo de adenosina-AMP-ATP, producen un microambiente inmunosupresor.

- *Mutaciones oncogénicas nuevas a la recaída*

o La aparición de subclonas seleccionadas por la presión de la quimioterapia y también inmune está bien documentada.

La biología de las recaídas ayuda a precisar la terapia

- Pérdida genómica de HLA: poca utilidad de infusión de linfocitos de donante. Ayuda a seleccionar segundo donante.

- Disminución de la expresión de moléculas de HLA: uso de interferón.

- Expresión de moléculas de puntos de chequeo inmune (PDL1/PD1): inhibidores de puntos de chequeo.

- Nuevas mutaciones líderes (FLT3ITD, IDH): terapia dirigida.

Estrategias para reducir el riesgo de recaídas
Reducir al máximo la carga de enfermedad
Régimen condicionante

Dos estudios aleatorizados en pacientes con LMA y MDS compararon condicionamiento RIC vs MAC; los resultados fueron controversiales: en el estudio del EBMT no hubo diferencias en recaídas, y una tendencia a mejoría en sobrevida en grupo RIC; en cambio en el protocolo del CIBMTR hubo un aumento significativo de recaídas en la rama RIC, y mejor SG en la rama MAC en LMA ⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾. Al elegir el régimen condicionante debería tenerse en cuenta edad, comorbilidades, actividad de la enfermedad y riesgo de la misma.

Intensidad de la inmunosupresión

La intensidad y duración de la inmunosupresión puede afectar el efecto injerto vs leucemia. En dos estudios aleatorizados el uso de ATG produciendo depleción linfocitaria *in vivo* mostró reducción del EICH crónico sin afectar la incidencia de recaída. Sin embargo, en un estudio más reciente randomizado doble ciego en pacientes con LMA/MDS con donante no relacionado idéntico, mieloablativo, comparando ATG fresenius vs placebo, la incidencia de recaídas fue mayor y la sobrevida menor en el grupo ATG ⁽²⁰⁾.

Mantenimiento

Terapias dirigidas a blancos moleculares

Un estudio fase II aleatorizado de sorafenib comparado contra placebo en LMA FLT3ITD + mostró un mayor índice de SLR en el grupo sorafenib. Otros TKI están siendo comparados en estudios prospectivos en marcha.

Igualmente, el tratamiento profiláctico o preemptivo con imatinib post ALO en pacientes con LLA PHI+, un estudio aleatorizado mostró excelentes resultados en ambas modalidades ⁽²¹⁾.

Agentes hipometilantes

Azacitidina y decitabina actúan produciendo citorreducción y diferenciación de células leucémicas. En el escenario del post TALO se vio que aumenta la respuesta ICL produciendo sobreexpresión epigenética de Ag HLA tipo I y II, antígenos tumorales y aumento de la respuesta celular CD8. También un aumento de células T regulatorias. Esto asociado a bajas dosis con baja citotoxicidad los ha ubicado para prevención o tratamiento de las recaídas post TALO en LMA/MDS. Estudios fase I /II mostraron que una dosis de 32 mg/m² por 5 días cada 30 días por 4 ciclos fue óptima, con baja mielotoxicidad y

sin efectos significativos en EICH agudo o crónico ⁽²²⁾. Un estudio combinando en forma profiláctica en pacientes con LMA/MDS de alto riesgo azacitidina + DLI mostró la factibilidad de la misma con una tasa de recaída a 3 años del 28% ⁽²³⁾.

Un estudio aleatorizado está en marcha comparando un año de mantenimiento con azacitidina vs no mantenimiento en pacientes con alto riesgo LMA/MDS y en recaídos.

La combinación de Aza x 4 ciclos + DLI planificada en pacientes con recaída molecular o hematológica fue evaluada en forma retrospectiva por el grupo alemán; la recaída molecular fue factor predictivo de respuesta completa, enfatizando el control estricto y la intervención temprana en estos pacientes ⁽²⁴⁾. En un estudio de búsqueda de dosis en mantenimiento con decitabina, 10 mg/m² por 5 días cada 6 semanas por 8 ciclos fue considerada la dosis óptima con mínima citotoxicidad ⁽²⁵⁾.

Interferón

Un estudio reciente prospectivo de un único centro en el cual pacientes con EMR+ post ALO fueron tratados con INF $\alpha 2b$ 3000000 2-3 veces por semana por 3-6 meses mostró que el 75% se había negativizado al mes. A 2 años la REC fue del 12%, la SLE y SG fue del 84 y 87%. EICH agudo grado III 6%, EICH crónico ¿extenso? 6.6%, MRT 4.3%. Si estos datos se confirman pueden constituirse en una nueva alternativa de profilaxis solo o combinado con DLI ⁽²⁶⁾.

Infusión de linfocitos de donante (DLI)

DLI en la mayor parte de estudios fue administrada en pacientes en remisión hematológica completa con quimera mixta, con enfermedad mínima residual persistente o recaída molecular. Por otra parte también fue administrada en pacientes con quimerismo completo y sin evidencias de enfermedad. La primera llamada DLI preemptiva y la segunda profiláctica. Los resultados han sido alentadores en ambos escenarios, pero con poblaciones heterogéneas y sin aleatorización.

Un estudio reciente del registro EBMT-ALWP de 105 pacientes que hicieron DLI profiláctica comparados con casos control, con un seguimiento medio de 6.9 años, mostró que en los pacientes con LMA de alto riesgo (citogenética desfavorable o TALO más allá de la 1ª RC) había una mejoría en sobrevi-

da (69.8% vs 40%, p 0.027); esta diferencia estuvo basada en disminución de la incidencia de recaída. LMA riesgo estándar y LLA no se beneficiaron. La media de infusiones fue de 2, a una media de 163 días post TALO y una media de infusión de CD3 de 3×10^6 /kg. EICH aguda III-IV tuvo incidencia de 4.5%, EICH crónica 28% ⁽²⁷⁾.

Otro estudio de dos grupos alemanes que realizaron TALO con FLAMSA-RIC y DLI profiláctica (RHC 4 meses post TALO, no EICH, no inmunosupresión) en 46 pacientes con casos control, mostró una reducción de recaída de 53% a 22% y un aumento de supervivencia de 67% vs 31%, p 0.001, con un seguimiento medio de 5.7 años ⁽²⁸⁾.

Más recientemente, el grupo chino mostró su experiencia en 100 pacientes con LMA refractarios/recaídos con DLI múltiples guiados por EICH y EMR junto con quimioterapia y un período corto de ciclosporina y con la primera DLI a los 30 días post TALO. La MRT, tasa de recaída, supervivencia libre de leucemia y SG a 3 años fue de 17%, 33%, 50% y 51% respectivamente. En análisis multivariado sólo una DLI y la persistencia de EMR+ post DLI fueron pronósticos para recaída ⁽²⁹⁾.

Leucemia linfática aguda recaída/refractaria del adulto

Tiene especialmente mal pronóstico. Tasa de respuestas del 30-44%, la supervivencia a 3 años es del 5-24%. Recientemente nuevas terapias inmunológicas han cambiado el escenario.

La evaluación temprana de EMR es fundamental para detectar quimiorresistencia y actuar rápidamente, ya que la intervención temprana en recaída molecular lleva a mejor SLE. El objetivo es utilizar las nuevas terapias dirigidas contra antígenos de las células leucémicas, CD20, CD19, CD22, para convertirlos en EMR negativa y consolidar o no con 1º o 2º TALO.

Anticuerpo anti CD20

En pacientes con LLA B CD20+ el agregado de rituximab a quimioterapia mejoró los resultados en Burkitt adulto y leucemias ⁽³⁰⁾.

Anticuerpo conjugado anti CD22: inotuzomab

Expresado en casi todos los blastos de LLA preB, conjugado a *chaliceamycin* que induce roturas de DNA. En un estudio aleatorizado en pacientes con

LLA recaída/refractaria se obtuvo 80% de RC y 78% de EMR, comparado con 30% y 28% con la terapia estándar. La duración de la respuesta fue de 5 meses⁽³¹⁾. Cuando se combinó IO con mini hiper CVD en pacientes de edad, la RC fue del 81%, con EMR del 100% y SLE a 2 años de 87%⁽³²⁾. Esto puede preparar mejor el estadio para pacientes que van a TMO ALO.

Anticuerpo biespecífico anti CD19/CD3: blinatumomab

En pacientes con LLAB con EMR+ posterior a consolidación fue usado blinatumomab con alta tasa de conversión a EMR, con una SLE a 3 años de 60%; 40% recibieron TALO y un grupo que no fue a trasplante tuvo una sobrevida prolongada⁽³³⁾.

Un 10-20% de las recaídas por blinatumomab están relacionadas con la desaparición de CD19 de las células leucémicas.

Células T modificadas con receptor quimérico antigénico (CAR T)

En los estudios en que se utilizó células CAR T la RC varió entre 67-91%.

EMR del 60-81%; 10-50% hizo TALO *a posteriori*. Dado la muy buena duración de la respuesta de los pacientes que obtuvieron RC con este tratamiento es controversial si TALO agrega algo a estos pacientes. Es probable que quede reservado para pacientes que no logran RC o que recaen post CAR T; aquí también un 10-20% de las recaídas son CD19-.

Conclusión

La recaída post trasplante autólogo/allogénico es el problema mayor en los resultados de los mismos. Los resultados de la investigación en esta área, especialmente en TPALO, no tienen suficientes niveles de evidencia para hacer recomendaciones.

Hay estudios prospectivos en marcha. En nuestro medio los grupos de trasplante junto con los hematólogos referentes podrían aportar protocolos que aborden este tema.

Conflictos de interés: El autor declara no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

1. Jaimovich G, Ostriz M y col. Autologous Stem Cell Transplantation (ASCT) with Benda-CV (Bendamustine, Cyclophosphamide, Etoposide) in Non-Hodgkin (non-HO) and Hodgkin (HL) Lymphoma Patients (pts). Biol Blood Marrow Transplant. 2017;23:s64.
2. Colombo E, Jarchum S, y col. Conditioning Regimens for Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Lymphoma: Comparison BEAM / BEAC-BUCY-GEMBUMEL. Clinical Lymphoma, Leukemia and Myeloma. 2018;18:S231.
3. Dahi P, Lazarus H y col. Strategies to improve outcomes of autologous hematopoietic cell transplant in lymphoma. Bone Marrow Transplantation. 2019; 54(7),943-960.
4. Smith E, Li H y col. Tandem Autologous Hematopoietic Cell Transplantation for Patients with Primary Progressive or Recurrent Hodgkin Lymphoma: A SWOG and Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network Phase II Trial (SWOG S0410/BMT CTN 0703). Biol Blood Marrow Transplant. 2018;24:700-707.
5. Moskowitz C, Nademanee A et al. Brentuximab vedotin as consolidation therapy after autologous stem-cell transplantation in patients with Hodgkin's lymphoma at risk of relapse or progression (AETHERA): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. The Lancet. 2015;385:1853-1862.
6. Gisselbrecht C, Schmitz N et al. Rituximab maintenance therapy after autologous stem-cell transplantation in patients with relapsed CD20(+) diffuse large B-cell lymphoma: final analysis of the collaborative trial in relapsed aggressive lymphoma. J Clin Oncol. 2012;30:4462-9.
7. Pettengell R, Schmitz N et al. Rituximab purging and/or maintenance in patients undergoing autologous transplantation for relapsed follicular lymphoma: a prospective randomized trial from the Lymphoma Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. J Clin Oncol. 2013;31:1624-

- 30.
8. Le Gouill S, Thieblemont C et al. Rituximab after autologous stem-cell transplantation in mantle-cell lymphoma. *N Eng J Med*. 2017;377:1250-60.
9. Bashir Q, Tall PF et al. Conditioning with busulfán plus melphalan versus melphalan alone before autologous haemopoietic cell transplantation for multiple myeloma: an open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Haematol*. 2019;5:266-275.
10. Stadmauer E, Pasquini M et al. Autologous Transplantation, Consolidation, and Maintenance Therapy in Multiple Myeloma: Results of the BMT CTN 0702 Trial. *J Clin Oncol*. 2019;37:589-597.
11. Cavo M, Gay F et al. Double autologous stem cell transplantation significantly prolongs progression-free survival and overall survival in comparison with single autotransplantation in newly diagnosed multiple myeloma: an analysis of phase 3 EMN02/H095 study. *ASH Meeting*. 2017; abstract pág. #401.
12. Mc Carthy P, Holstein S et al. Lenalidomide Maintenance After Autologous Stem-Cell Transplantation in Newly Diagnosed Multiple Myeloma: A Meta-Analysis. *J Clin Onc*. 2017;29:3279-3288.
13. Jackson G., Davies F., et al. Lenalidomide maintenance versus observation for patients with newly diagnosed multiple myeloma (Myeloma XI): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2019;20,57-73.
14. Dimopoulos M, Gay F et al. Oral ixazomib maintenance following autologous stem cell transplantation (TOURMALINE-MM3): a double-blind, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2019;393,253-264
15. Zeiser R, Vago L. Mechanisms of immune escape after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2019;133:1290-1297.
16. Toffalori C, Zito L et al. Immune signature drives leukemia escape and relapse after hematopoietic cell transplantation. *Nature Med*. 2019;25,603-611.
17. Christopher M, Petti A et al. Immune Escape of Relapsed AML Cells after Allogeneic Transplantation. *N Engl J Med*. 2018;5:2330-2341.
18. Kroger N, Iacobelli S et al. Dose-Reduced Versus Standard Conditioning Followed by Allogeneic Stem-Cell Transplantation for Patients With Myelodysplastic Syndrome: A Prospective Randomized Phase III Study of the EBMT (RICMAC Trial). *J Clin Oncol*. 2018;35:2157-2161.
19. Scott B, Pasquini M et al. Myeloablative Versus Reduced-Intensity Hematopoietic Cell Transplantation for Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes. *J Clinical Oncol*. 2017;35:1154-1161.
20. Soiffer R, Haesook T et al. Prospective, Randomized, Double-Blind, Phase III Clinical Trial of Anti-T-Lymphocyte Globulin to Assess Impact on Chronic Graft-Versus-Host Disease-Free Survival in Patients Undergoing HLA-Matched Unrelated Myeloablative Hematopoietic Cell Transplantation. *J Clin Oncol*. 2017;35:4003-4011.
21. Pfeiffer H, Wassman B et al. Randomized comparison of prophylactic and minimal residual disease-triggered imatinib after allogeneic stem cell transplantation for BCR-ABL1-positive acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 2013;27:1254-1262.
22. de Lima M, Giralt S et al. Maintenance Therapy with Low-Dose Azacitidine after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Relapsed AML or MDS: a Dose and Schedule Finding Study. *Cancer*. 2010;116:5420-31.
23. Guillaume T, Yakoub Agha I et al. Prospective Phase II Study of Prophylactic Azacitidine and Donor Lymphocyte Infusions Following Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for High Risk Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndrome. *Blood*. 2016;128:1162 abs.
24. Schoeder T, Rachlis E et al. Treatment of Acute Myeloid Leukemia or Myelodysplastic Syndrome Relapse after Allogeneic Stem Cell Transplantation with Azacitidine and Donor Lymphocyte Infusionsd A Retrospective Multicenter Analysis from the German Cooperative Transplant Study Group. *Blood*. 2015;21:653-660.
25. Pusic I, Choi J et al. Maintenance Therapy with Decitabine after Allogeneic Stem Cell Transplantation for Acute Myelogenous Leukemia and Myelodysplastic Syndrome. *Biol Blood Marrow Transplantation*. 2015;21:1761-9.
26. Mo X, Zhang X et al. IFN- α Is Effective for Treatment of Minimal Residual Disease in Patients with Acute Leukemia after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Results of a Registry Study. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2017;23:1303-1310.
27. Schmid C, Labopin M et al. Prophylactic donor lymphocyte infusion after allogeneic stem cell transplantation in acute leukemia- a matched pair analysis by the Acute Leukemia Working Party of EBMT. *British J Hematol*. 2019;184,782-787.
28. Jedlickova Z, Schmid C et al. Long-term results of

- adjuvant donor lymphocyte transfusion in AML after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transp.* 2016;51:663-667.
29. Yan C, Liu Q et al. Prophylactic Donor Lymphocyte Infusion (DLI) Followed by Minimal Residual Disease and Graft-versus-Host Disease-Guided Multiple DLIs Could Improve Outcomes after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Patients with Refractory/Relapsed Acute Leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2017;23:1311-1319.
 30. Thomas D, O'Brien S et al. Chemoimmunotherapy With a Modified Hyper-CVAD and Rituximab Regimen Improves Outcome in De Novo Philadelphia Chromosome-Negative Precursor B-Lineage Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol.* 2010;28:3880-3889.
 31. Kantarjian D, de Angelo D et al. Inotuzumab Ozogamicin versus Standard Therapy for Acute Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med.* 2016;375:740-753.
 32. Jabour E, Ravandi F et al. Salvage Chemoimmunotherapy With Inotuzumab Ozogamicin Combined With Mini-Hyper-CVD for Patients With Relapsed or Refractory Philadelphia Chromosome-Negative Acute Lymphoblastic Leukemia: A Phase 2 Clinical Trial. *JAMA Oncol.* 2018;4:230-234.
 33. Zugmaier G, Gokbuget T et al. Long-term survival and T-cell kinetics in relapsed/refractory ALL patients who achieved MRD response after blinatumomab treatment. *Blood.* 2015;126:2579-2583.
 34. Craddock C, Hoelzer D. Current status and future clinical directions in the prevention and treatment of relapse following hematopoietic transplantation for acute myeloid and lymphoblastic leukemia. *Bone Marrow Transplantation.* 2019;54:6-16.



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.

Hemorragia en trauma: fisiopatología y manejo

Hemorrhage in trauma and trauma induced coagulopathy

Fondevila CG
Clínica Bazterrica y Universidad del Salvador

c_fondevila@hotmail.com



IV SIMPOSIO
CONJUNTO EHA - SAH

HEMATOLOGÍA
Volumen 23 Número Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 354-362
Octubre 2019

Palabras claves: sangrado,
coagulopatía dilucional,
coagulopatía aguda del trauma,
hiperfibrinólisis.

Keywords: bleeding,
dilutional coagulopathy,
acute traumatic coagulopathy,
hyperfibrinolysis.

Abreviaturas

ABC *assessment of blood consumption*
ATLS *advanced trauma life support*
CAT coagulopatía aguda del trauma
CCP concentrados de complejo protrombina
CID coagulación intravascular diseminada
DAMPs *damage-associated molecular patterns*
EPCR receptor endotelial de PC
FC frecuencia cardíaca
GRD glóbulos rojos desplasmatizados
HF hiperfibrinólisis
ISS índice de severidad del shock
MTP *massive transfusion packs* (paquetes transfusionales listos para usar y formados por 4u de GRD y 4u PFC ± plaquetas y crioprecipitados)

PFC plasma fresco congelado
PIP complejos plasmina-inhibidor de plasmina
ROTEM tromboelastometría rotacional
SHINE *shock induced endoteliopathy*
TAS tensión arterial sistólica
TASH *trauma associated severe hemorrhage*
TEG tromboelastografía
TM transfusión masiva
TP tiempo de protrombina
TTPA tiempo de tromboplastina parcial activado

Introducción

A nivel mundial, el trauma es causa principal de muerte. Al menos un tercio y hasta 60% de los pacientes con trauma sangra: la mitad necesitará una transfusión. Dependiendo del escenario, 3% del trauma civil y hasta 10% del trauma militar tendrá sangrado masivo, y esta condición importa una exigencia mayúscula para el banco de sangre: el 80% del total de hemocomponentes utilizados se consumirá en las primeras 6 horas de la resucitación. La mortalidad de los pacientes con sangrado trepa al 30-60% y la hemorragia es responsable del 40% de esas muertes. La hemorragia es la segunda causa de muerte en la escena (sólo precedido por el daño del SNC), la primera entre aquéllos que viven lo suficiente como para llegar al hospital y la primera en quirófano. Hasta el 80% de las muertes en las primeras horas intrahospitalarias se deberá a hemorragia y 2 de cada 3 se producirán en las primeras 6 horas.

- **La hemorragia del trauma es una de las dos principales causas de muerte temprana y la primera causa de muerte prevenible.**
- **Su manejo exige decisiones rápidas y comunicación fluida con el banco de sangre.**

Características del sangrado coagulopático

La hemorragia traumática es inicialmente orgánica, a partir de un daño vascular o tisular y con uno o varios vasos responsables. Con el correr de los minutos se instalará progresivamente una coagulopatía. En al menos un tercio de los casos de trauma grave, esta coagulopatía llega rápidamente. Por otra parte, prácticamente todos los pacientes tendrán falla hemostática hacia el final de cualquier resucitación prolongada.

El sangrado por falla hemostática se anuncia por la presencia de sangrado más allá de la expectativa del cirujano, en sitios donde los tejidos se encuentran

“razonablemente aproximados”. Por ejemplo, sangrado difuso en el lecho quirúrgico, babeo tisular que continúa a pesar de haberse controlado el sangrado vascular, sangrado por serosas, mucosas, sitios de heridas o de accesos vasculares o equimosis sin trauma previo.

Sangrado crítico, masivo o exsanguinante

Estos términos se refieren siempre a un sangrado de magnitud e intensidad considerables. No son lo mismo que “transfusión masiva”, concepto que se refiere a la transfusión de al menos 1 volemia en 24 horas. El impacto hemodinámico de sangrar una volemia en 24 horas es mucho menor que, por ejemplo, la pérdida de 40% de la volemia en 3 horas. Las definiciones para sangrado masivo o exsanguinante varían, aunque mantienen un punto en común: todas implican la pérdida de mucha sangre en poco tiempo. Algunas de estas definiciones resultan poco prácticas, ya que obligan a cuantificar la pérdida (en ml/min o en unidades de glóbulos transfundidos) y en ocasiones fijan un tiempo de observación de 3, 4 o 6 horas.

Se considera crítico todo sangrado cuya magnitud o velocidad excedan la capacidad de compensación de la resucitación. La Tabla 1 resume datos prácticos que permiten inferir rápidamente que el sangrado es grave.

La coagulopatía del paciente con trauma

El sangrado traumático suele ser inicialmente anatómico. En estos casos, la hemostasia tiene un papel secundario: detener el sangrado depende de aplicar soluciones quirúrgicas, radiológicas o endoscópicas. El aporte de fluidos, GRDs y hemostáticos es un “puente” que permite que el procedimiento se realice en el mejor contexto hemodinámico/hemostático posible. Ocasionalmente el trauma ocurre en

Tabla 1. Indicadores de sangrado crítico

Respuesta transitoria o nula a la expansión inicial Sangrando con FC ≥ 110 y/o TAS ≤ 90 Pérdida $>50\%$ de la volemia en menos de 3 horas Sangrado masivo: necesidad $>4u$ GRD en 4 horas; ritmo >100 ml/min Sangrado exsanguinante: pérdida inicial $>40\%$ de la volemia; ritmo >250 ml/min

un paciente con un trastorno previo de la hemostasia (por ej., un hemofílico o un anticoagulado) y estos casos requerirán, a la par de la solución instrumental del sangrado, la adecuada corrección de la hemostasia. En todos los casos, un tiempo-hasta-hemostasia prolongado favorecerá la instalación progresiva de una coagulopatía. Una vez instalada la falla de la hemostasia, ya no será suficiente la solución instrumental para detener el sangrado: detenido el sangrado por un sitio, se verá que sangra por otro.

La coagulopatía del trauma responde a daño tisular, consumo y pérdida de factores por el sitio de sangrado, shock e inflamación. Cuando la hipoperfusión se prolonga, se produce hipotermia y la hipoxia provoca acidosis y daño endotelial con fibrinolisis. Más tarde, a los anteriores se suman hemodilución y más hipotermia en relación con la resucitación.

La literatura no se ha mostrado muy estricta con las definiciones y suele mezclar los conceptos “coagulopatía del trauma”, “coagulopatía inducida por trauma o TIC”, “coagulopatía aguda del trauma o CAT”, entre otros nombres.

La falla hemostática del trauma responde a mecanismos intrínsecos al trauma, algunos presentes de inmediato y otros que se instalan luego más o menos rápidamente. Además de la anterior, los pacientes con trauma pueden sangrar en forma mediata, tras la aparición de una coagulopatía no relacionada con el trauma sino con la iatrogenia de la resucitación. En sangrados de magnitud, esta forma secundaria de coagulopatía puede instalarse muy rápidamente y confundirse con la TIC. En conjunto todos estos mecanismos forman el amplio espectro de “las coagulopatías del trauma” (Tabla 2).

I. Coagulopatía aguda del trauma

En el pasado un cuadro de tendencia severa al san-

grado fue descrito en pacientes con shock, hemorragia, quemados, paro cardíaco, cáncer diseminado, emergencias obstétricas y cirugía mayor. El fenómeno se explicaba por la presencia de fibrinólisis “espontánea”.

El cuadro recibió diferentes nombres: púrpura fibrinolítica, síndrome de defibrinación, desorden de consumo, coagulopatía con babeo difuso, coagulación intravascular difusa con fibrinolisis. Más recientemente ha sido llamada ATC (aguda traumatic coagulopathy), ETIC (early trauma induced coagulopathy) o ACoT/S (aguda coagulopathy of trauma/shock).

Los distintos acrónimos de esta forma de coagulopatía dejan en claro sus tres características principales: es intrínseca al trauma, aparece muy tempranamente (antes de la resucitación/dilución) y se asocia con trauma grave/shock (= hipoperfusión y acidosis).

Los pacientes con CAT tienen mayor requerimiento transfusional y más mortalidad. En la guerra de Vietnam, soldados en shock que mostraban el fenotipo sangrado-tipo-babeo-microvascular (*oozing bleeding*) tuvieron una evolución uniformemente fatal.

Hasta 25% de los pacientes con trauma grave presentan, al ingreso, descensos leves del TP y plaquetas; la prolongación del TTPA es menos frecuente. Con métodos apropiados (TEG, ROTEM), estos pacientes muestran también la presencia de hiperfibrinolisis. La presencia de CAT multiplica x 6 el riesgo ya aumentado de muerte asociado a la transfusión masiva (30% versus 5% en trauma con TM *versus* 0,6% en trauma sin TM).

La CAT responde a la presencia de daño tisular, inflamación, hipoperfusión y daño endotelial.

La CAT es prevalente en trauma grave (ISS >15), con daño tisular extenso y gran formación de trombina.

Tabla 2. Las coagulopatías del trauma

Coagulopatía aguda del trauma
Endotelopatía
Hiperfibrinolisis
Trombocitopatía
Coagulopatía de la resucitación (antes llamada dilucional)
El punto de no retorno de un sangrado masivo (el factor tiempo)

Requiere, además, una severa hipoperfusión tisular con acidosis, liberación de DAMPs y expresión de trombomodulina/EPCR en la superficie endotelial. En acidosis, la gran cantidad de trombina generada diverge de su ruta habitual y se une a trombomodulina, resultando en formación excesiva de proteína C activada. La depleción de PC ocurre rápidamente, habiéndose encontrado en muestras tomadas en la escena. La PCa inactiva al FV y FVIII (= coagulopatía), consume PAI-1 y facilita la acción del t-PA liberado desde el endotelio dañado (= hiperfibrinolisis), con consumo de fibrinógeno y formación de un coágulo friable. La expresión endotelial aumentada de trombomodulina con aumento de trombomodulina soluble y el descenso de PC con aumento de PCa indican daño endotelial.

En presencia de CAT, la resucitación con soluciones cloruradas agrava el cuadro por mayor acidosis (hipercloremia). El aporte de plasma y factores de la coagulación resulta poco eficaz y no contribuye a la formación de fibrina, sino que favorece la formación de más trombina y más PCa.

- **La CAT se manifiesta dentro de los 30 minutos de producido el trauma, en pacientes poco resucitados y sin sangrado excesivo. No es dilucional: se debe a hipocoagulabilidad e hiperfibrinolisis. La resucitación convencional no la corrige y aún la empeora.**

La CAT es poco evidente en el laboratorio de rutina. Los marcadores de hiperfibrinolisis o de activación de la vía trombina-trombomodulina-PC (dímero D, fragmento 1+2 de la protrombina, aumento de trombomodulina soluble, descenso de PC) no se reflejan en las pruebas de rutina. Las pruebas más sensibles para demostrar la presencia de la hiperfibrinolisis son la determinación de α 2-PI (antes α 2-antiplasmina), complejos PIP (antes PAP) y el dímero D, aunque resultan imprácticas en la urgencia. Las pruebas viscoelásticas en sangre entera (TEG, ROTEM), aunque menos sensibles que las anteriores, han demostrado su utilidad en la urgencia. En estudios anatomopatológicos, la ausencia de depósitos diseminados de fibrina intravascular justifica separar la CAT de la CID con fenotipo fibrinolítico.

SHINE: el daño endotelial como causa de coagulopatía

Se asocia al trauma grave y a shock/hipoperfusión/hipoxia prolongada.

La hipoperfusión sostenida de la microvasculatura es causa de hipoxemia, acidosis e hipoperfusión. Algunos ejemplos son la sepsis, el post paro cardiorrespiratorio. También el sangrado sostenido, cuando se prologa el tiempo-hasta-hemostasia (“compensámelo y te lo opero”) o cuando el ritmo del sangrado excede al de la resucitación y el paciente permanece hipotenso e hipoperfundido. Todos estos casos tienen en común la acumulación progresiva de una deuda de O₂. Cuando la deuda se perpetúa y se hace impagable, se produce la disrupción del endotelio. Durante la reperfusión que sigue a la resucitación se movilizan radicales libres y polimorfonucleares, se liberan citoquinas, metabolitos del AA, NO y NETs con daño a la microvasculatura y *leak* capilar. Múltiples factores presentes en el shock traumático son capaces de dañar al endotelio: trauma tisular, hipoxia, liberación de catecolaminas, acción de citoquinas e inflamación. La respuesta a la injuria implica una cascada de desregulación inmune e inflamación estéril, incluyendo múltiples DAMPs, formación de NETs y acción de histonas. En presencia de trombina, hipoxia y citoquinas, la célula endotelial sufre la pérdida del glicocáliz, lo que se traduce en el aumento en circulación de marcadores de daño/activación (sindecan-1, heparan sulfato, trombomodulina soluble, t-PA, E-selectina, VE-caderina y nucleosomas). La incidencia de CAT fue mayor en aquellos con sindecan-1 elevado, independientemente del ISS y sindecan-1 elevado se acompañó de más requerimiento transfusional y más mortalidad. La pérdida del glicocáliz se acompaña de un estado de hipocoagulabilidad, con autoheparinización, disminución del fibrinógeno funcional e hiperfibrinolisis evidentes en pruebas viscoelásticas. La pérdida de la unión intercelular y de la función de barrera se acompaña de edema y falla multiorgánica. Mientras que la resucitación con solución salina produce inflamación, hiperpermeabilidad y apoptosis de la célula endotelial, el uso de PFC reduce la disfunción endotelial, restaura el glicocalix e impide la pérdida de sindecan-1, la inflamación, la hiperpermeabilidad y el pegado de PMNs. Similar beneficio sobre la integridad y función del endotelio vascular fue observado con transfusión de plaquetas almacenadas a 4°C.

En el final, la endotelio patía es un estado hipocoagulable por autoheparinización y fibrinólisis. El fenotipo recuerda al de la CID hemorrágica (CID-like). Una vez alcanzado este punto, el sangrado resulta

incoercible, ya que la transfusión de hemocomponentes no logra restaurar la hemostasia (coagulopatía del final). En este punto, el uso de rFVIIa ha mostrado beneficios, y por ello se lo considera un último recurso ante sangrado refractario y coagulopatía hipotérmica. Un Consenso Argentino sugirió el uso de rFVIIa en trauma (especialmente contuso) con sangrado masivo, sin respuesta al tratamiento convencional, sin vaso identificable o con sangrado coagulopático/laboratorio de CID.

Hiperfibrinólisis

La hiperfibrinólisis está presente al ingreso en hasta 80% de los traumas graves. Su presencia se asocia con shock, acidosis y endotelopatía. La HF no es evidente en el laboratorio habitual mientras que, con pruebas viscoelásticas, es evidente en menos de 10% de los casos. La combinación de ISS >25, hipotensión, RIN $\geq 1,3$, temperatura $<36^{\circ}\text{C}$ y pH $<7,2$ se acompaña de HF en el 100% de los casos. La acidosis exacerba la fibrinólisis. La hipotermia frena la síntesis del fibrinógeno. Cuando la HF es evidente en TEG o ROTEM la mortalidad es mayor al 60% y llega al 100%: los pacientes con HF con frecuencia tienen sangrado masivo, se mueren más y se mueren sangrando. La HF fulminante (dentro de los 30 minutos del trauma) es parte constitutiva de la CAT y es a menudo un hallazgo perimortem. La HF puede aparecer tardíamente, durante la etapa final de una resucitación prolongada, a partir de la endotelopatía del shock prolongado y también se asocia con alta mortalidad.

La expansión con cristaloides exacerba la HF mientras que el uso de PFC la atenúa.

El estudio CRASH-2 demostró que el uso de ácido tranexámico en pacientes con trauma y sangrado significativo (TAS < 90 mmHg y/o FC > 110 x min) redujo la mortalidad y la mortalidad por sangrado. El beneficio fue evidente hasta las 3 horas del trauma y fue mayor en aquéllos tratados antes de 1 hora. Por este motivo las guías actuales recomiendan el uso precoz de ácido tranexámico (1 g en 10 minutos, seguido de 1 g en goteo de 8 hs) en trauma con sangrado mayor o riesgo de sangrado mayor. Si bien parecería racional limitar el uso de tranexámico a casos con hiperfibrinólisis demostrada, esto no ha sido investigado. Carecemos de información respecto de otros fármacos con acción antifibrinolítica (épsilon aminocaproico o aprotinina).

Trombocitopatía

Las plaquetas representan un aporte fundamental para la formación y firmeza del coágulo. En cuanto a la formación de un coágulo firme, la importancia de las plaquetas es mayor que la del fibrinógeno. La trombocitopenia del trauma es un marcador de mal pronóstico. Aún con recuentos normales, la mitad de los pacientes muestra alteraciones de la agregación plaquetaria inmediatamente después del trauma, tanto más evidentes en casos de trauma grave, trauma craneal o shock. Post trauma, las plaquetas parecen circular “exhaustas” a consecuencia de un estado activado, lo que las hace menos respondedoras ex vivo ante los agonistas utilizados en lumia-gregometría. Esta activación endógena parece deberse a la presencia de ADP circulante liberado por el endotelio dañado. La transfusión de plaquetas no revierte las alteraciones en la agregación. Datos recientes vinculan la presencia de disfunción plaquetaria con una mayor susceptibilidad del coágulo a la lisis. Pacientes con falla en la agregación con ADP demuestran mayor sensibilidad a t-PA. Las plaquetas son fuente de PAI-1 y de FV resistente a PCa; a su vez, lisados plaquetarios frenan la fibrinólisis. Lo anterior podría explicar parte del beneficio de la transfusión temprana de plaquetas. Finalmente, las micropartículas-derivadas-de-plaquetas parecen tener un rol en la coagulopatía del trauma. Niveles reducidos se asociaron con coágulos de mala calidad, mayor requerimiento transfusional y más mortalidad. La menor formación de micropartículas sería consecuencia de la disfunción y menor agregabilidad de las plaquetas del trauma.

II. Coagulopatía de la resucitación

También llamada dilucional o de la transfusión masiva. Es consecuencia directa del tratamiento. La resucitación convencional según normas ATLS prioriza restaurar la volemia y el transporte de oxígeno. La práctica usual es resucitar con soluciones cristaloides y GRDs. El soporte hemostático se posterga hasta luego de infundidas 4-6 u de GRDs (PFC) u 8-12 u de GRDs (plaquetas) o se indica recién cuando el laboratorio muestra valores insuficientes. Esta resucitación “en etapas” resulta en dilución. La hemodilución justifica el sangrado a partir de los 80 ml/kg o de que se remplazaron 1.5-2 volemias (transfusión masiva). Sin embargo, la coagulopatía puede aparecer mucho antes si a la dilución se su-

man la hipotermia y la acidosis, consecuencias de la infusión masiva de fluidos y de la hipoperfusión. Esto ha sido llamado “círculo vicioso de la hemorragia” o “triada letal” del sangrado masivo.

- **La coagulopatía de la resucitación resulta de la presencia simultánea de dilución, hipotermia y acidosis.**
- **En un escenario de sangrado masivo o exsanguinante, la resucitación convencional resulta subóptima: el aporte de factores es tardío y no previene la coagulopatía.**

Central para entender la instalación de la coagulopatía de la resucitación resulta el concepto de punto de no retorno o punto crítico de una resucitación.

El punto de no retorno de la resucitación. El factor “tiempo” como causa de falla hemostática. Resucitación proactiva (con control del daño hemostático resucitativo)

Cuando el procedimiento para detener el sangrado se demora, la hemorragia sostenida con hipoperfusión, hipotermia y acidosis, evoluciona hacia una coagulopatía. La falla hemostática progresiva es resultado del daño endotelial hipóxico y de una dilución sostenida, más allá del punto crítico. Éste último es el punto de la resucitación de un sangrado activo a partir del cual el aporte de hemocomponentes no logra corregir la coagulopatía ni detener el sangrado. En la resucitación convencional ATLS el soporte hemostático es tardío, después de múltiples unidades de GRDs o de un resultado de laboratorio no hemostático. Por otra parte, el concepto de valor hemostático para las pruebas de coagulación es aplicable a déficits únicos en condiciones de T° y pH normales y no se corresponde con el sangrado crítico, con descenso simultáneo de varios factores más hipotermia y acidosis. La hipotermia reduce la velocidad de síntesis del fibrinógeno y la acidosis promueve la fibrinólisis. Para formar un coágulo firme se requiere un fibrinógeno mayor a 200 mg/dl, plaquetas por encima de 100000 /ul y una disponibilidad de FXIII >30%. En situaciones de sangrado masivo y sostenido, valores inferiores (aunque “suficientes” según el concepto convencional) no dan abasto para formar en tiempo y forma un coágulo estable. Como resultado de esta deficiencia funcional se forman coágulos friables que serán rápidamente lisados con lo que el sangrado continuará. Estos coágulos friables son evidentes en pruebas

viscoelásticas. Diferentes trabajos mostraron que fibrinógeno por debajo de 2,29 o 2,00 g/L y plaquetas <100.000 μ /l se acompañaban de sangrado y mortalidad en trauma, trauma craneal, obstetricia, cirugía cardiovascular y cirugía de aneurisma de aorta abdominal roto. En consecuencia, consensos recientes han modificado los umbrales para la reposición de fibrinógeno y de plaquetas. También se han formulado sugerencias para incorporar los resultados de las pruebas viscoelásticas a la toma de decisiones.

El punto crítico de la resucitación de un sangrado masivo es diferente para cada factor y está por encima del valor hemostático tradicional. Para el fibrinógeno, el punto crítico se alcanza cuando se ha sangrado algo menos de una volemia. Para plaquetas y otros factores (FV), se requiere una pérdida cercana a 2 volemias. Estudios experimentales, luego corroborados en la práctica, demostraron que, durante el sangrado sostenido, la mejor “fórmula de reposición” que impide que factores y plaquetas caigan hasta el punto de no retorno es aquella que infunde simultáneamente PFC y GRD en relación 1:1 o 2:3 y PLAQ:GRD en relación 8:12. El punto de no retorno llega muy rápidamente cuando el sangrado es severo, en especial cuando la resucitación incluye la infusión de grandes volúmenes de cristaloideos/co-loides/GRDs o cuando se mantiene una TA sistólica elevada. Varios de estos “errores” son práctica habitual de la resucitación convencional ATLS. Por este motivo, durante las guerras del Golfo, la mortalidad de los soldados con sangrado masivo osciló entre 30 y 60%, lo que obligó a implementar una nueva práctica de resucitación.

La resucitación hemostática o proactiva (también conocida como resucitación con control del daño hemostático) consiste en adelantar la transfusión de hemostáticos mediante el uso de MTPs (packs de PFC y GRDs con una relación fija 1:1 o 2:3). Si bien originalmente algunos packs incluían plaquetas 1:1:1 (y hasta crioprecipitados), actualmente éstos se reservan para el 2° MTP-pack, en caso de que el sangrado persista. La infusión de estos MTPs-2 debería, preferentemente, guiarse por resultados de un laboratorio rápido.

Algunos protocolos de resucitación proactiva reemplazan los hemocomponentes por concentrados de fibrinógeno o CCP. Esta reposición dirigida debe guiarse por resultados “*point of care*” (por ej., test viscoelásticos rápidos). Estas estrategias diferentes

pueden ser complementarias: iniciar la resucitación a ciegas, mediante packs de TM 1:1 o 1:1:1. Una vez que arriben los resultados del laboratorio rápido, migrar hacia una reposición dirigida.

La resucitación proactiva demostró una reducción significativa de la mortalidad sólo en aquellos pacientes que requirieron más de 8u GRDs. Dado que representa una enorme carga para el banco de sangre, debemos aprender a limitar su aplicación a los casos de trauma destinados a sangrar masivamente. Para identificar a estos pacientes disponemos de diferentes estrategias: la intuición/examen clínico, el patrón de respuesta a la resucitación inicial o el uso de índices (Tablas 3 y 4).

- **Más tiempo sangrando = coagulopatía.**
- **Soprote hemostático muy tardío = coagulopatía sin retorno.**
- **El laboratorio convencional no tiene lugar como guía de la resucitación. Los valores hemostáticos convencionales son insuficientes durante el sangrado masivo.**
- **En determinadas circunstancias, la resucitación convencional agrava la coagulopatía: daño hemostático resucitativo.**
- **La mortalidad del sangrado masivo se reduce significativamente con resucitación proactiva (fórmulas 1:1).**
- **La resucitación proactiva debe utilizarse caso por caso, identificando rápidamente qué paciente tiene riesgo de sangrar masivamente.**

Puntos clave

- **La coagulopatía es un evento frecuente en trauma grave. La muerte por sangrado es la segunda más frecuente y la primera entre aquéllos que llegan al hospital.**
- **Las decisiones deben ser rápidas y el juicio clínico insustituible.**
- **El laboratorio convencional es lento para la**

toma de decisiones y los valores hemostáticos convencionales no son aplicables al sangrado activo y sostenido con deficiencias múltiples, hipotermia y acidosis.

- **En muchos casos de resucitación prolongada, la coagulopatía es una iatrogenia que resulta de la combinación de dilución, consumo, hipotermia y acidosis.**
- **Cuando el sangrado es masivo, la resucitación ATLS se ha mostrado ineficaz y resulta en prolongación del sangrado y de la hipoperfusión.** El soporte hemostático debe llegar en cantidad y tiempo adecuados. Una vez pasada la ventana de oportunidad, será muy difícil detener el sangrado. La hipoxemia sostenida resulta en endotelopatía con más coagulopatía.
- **Una minoría de pacientes con trauma grave, severamente hipoperfundidos y acidóticos, presenta CAT al ingreso y antes de la resucitación.**
- **Endotelopatía, trombocitopatía e hiperfibrinólisis contribuyen a la coagulopatía en CAT y en sangrado sostenido.**
- **El uso temprano de ácido tranexámico en trauma grave ha reducido significativamente la mortalidad.**
- **La limitación de cristaloides y la resucitación proactiva con infusión precoz de PFC ha mostrado una menor mortalidad así como repleción más temprana de factores de coagulación/reversión de la coagulopatía y atenuación de la cascada inmunoinflamatoria y del daño endotelial.**
- **Los beneficios de la resucitación proactiva se limitan a la población destinada a sangrar masivamente (6-8 u GRD en las siguientes 6 horas) con alto riesgo de muerte.**

!!! Todo este esfuerzo será fútil si no se detiene el sangrado rápidamente!!!

Tabla 3. Indicadores de la necesidad potencial de transfusión masiva

Datos evidentes al ingreso - Indican magnitud del sangrado: shock (TAS <90); FC >110, índice de shock (FC/TAS) >0.7, sangrado activo con FC >110 y TAS <90 - Indican presencia de coagulopatía: TP <70%, RIN >1.3, plaquetas <100000 - Indican hipoperfusión: acidosis (DB menor a -6, lactato >5 mMol/l), T° <35-36°C
Datos evidentes durante el examen clínico - Pulso radial débil/ausente (sugiere TAS <70) - Estatus mental alterado (sugiere TAS <60) - Hipotermia o acidosis persistentes - Patrón de lesión: trauma penetrante con destrucción tisular masiva, amputaciones múltiples o proximales (muslo), sangrado de tronco + amputación proximal, evisceración abdominal + hipotensión
Datos evidentes durante la resucitación - Respuesta transitoria o nula a la resucitación inicial con fluidos y GRD (no sale del shock, no estabiliza TA) - Criterios de sangrado exsanguinante (ya perdió >40% volemia, pérdida de 50% volemia en 10 minutos, sangra 150-250 ml/min) - Pérdida de 50% de la volemia en 3 horas - Índice ABC ≥2, score TASH ≥18

Tabla 4. Índices ABC para evaluación del sangrado

Mecanismo penetrante	1
TAS ≤ 90	1
FC ≥120	1
FAST (<i>focused assessment with sonography for trauma</i>) ⁺	1
Total	≥2 activar protocolo de TM (S 75%, E 86%, VPP 55%)

Conflictos de interés: El autor declara no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

1. Fries D, Innerhofer P, Schobersberger W. Time for changing coagulation management in trauma-related massive bleeding. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2009; 22: 267-74.
2. The CRASH-2 Collaborators. Effects of tranexamic acid on death, vascular occlusive events, and blood transfusion in trauma patients with significant haemorrhage (CRASH-2): a randomized, placebo-controlled trial. *The Lancet.* 2010; 376: 23-32.
3. Howard BM, Daley AT, Cohen MJ. Prohemostatic interventions in trauma: resuscitation-associated coagulopathy, acute traumatic coagulopathy, hemostatic resuscitation, and other hemostatic interventions. *Semin Thromb Hemost.* 2012; 38: 250-58.
4. Cap A, Hunt BJ. The pathogenesis of traumatic coagulopathy. *Anaesthesia* 2015; 70 (Suppl 1): 96-101.
5. Rossaint R, Bouillon B, Cerny V y col. The European Guideline on management of major bleeding and coagulopathy following trauma: fourth edition. *Crit Care.* 2016; 20: 100-130.
6. Davenport R, Brohi K. Cause of trauma-induced coagulopathy. *Curr Opin Anesthesiol.* 2016; 29: 212-219.

7. Simmons JW, Powell MF. Acute traumatic coagulopathy: pathophysiology and resuscitation. *Brit J Anaest.* 2016; 117 (S3): iii31-iii43.
8. White NJ, Ward KR, Pati S, Strandenes G, Cap AP. Hemorrhagic blood failure: Oxygen debt, coagulopathy and endothelial damage. *J Trauma Acute Care Surg.* 2017; 82: S41-S49.
9. Johansson P, Stensballe J and Ostrowski SR. Shock induced endotheliopathy (SHINE) in acute critical illness - a unifying pathophysiologic mechanism. *Crit Care.* 2017; 21: 25-32.
10. Cannon JW, Khan MA, Raja AS y col. Damage control resuscitation in patients with severe traumatic hemorrhage: A practice management guideline from the Eastern Association for the Surgery of Trauma. *J Trauma Acute Care Surg.* 2017; 82: 605-617.
11. Madurska MJ, Sachse KA, Jansen JO, Rasmussen TE, Morrison JJ. Fibrinolysis in trauma: a review. *Eur J Trauma Emerg Surg.* 2018; 44: 35-44.
12. Kornblith LZ, Moore HB, Cohen MJ. Trauma-induced coagulopathy: The past, present, and future. *J Thromb Haemost.* 2019; 17: 852-862.
13. Curry N, Davenport R. Transfusion strategies for major haemorrhage in trauma. *Br J Haematol.* 2019; 184: 508-523.



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.

Transfusión en pacientes con sangrado agudo mayor: evidencia de cuándo, a quién y qué producto es mejor

Transfusion in patients with acute major blood loss: evidence when, for whom and what products are best

Zwaginga JJ

¹ Laboratorio Central, Hematología y Hemostasia, Hospital de Pediatría Leiden University Medical Centre, Department of Immunohematology and Blood Transfusion and the Centre for Clinical Transfusion Research, Sanquin Research, Leiden, The Netherlands.

j.j.zwaginga@lumc.nl

This article is modified but largely based on the article with the same title that appeared in HemaSphere, 2018;2:S2, Educational Updates in Hematology Book, DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/HS9XXXX>



IV SIMPOSIO
CONJUNTO EHA - SAH

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Número Extraordinario
XXIV Congreso Argentino
de Hematología: 363-368
Octubre 2019

Palabras claves: protocolo de transfusión masiva, sangrado mayor, hemostasis.

Keywords: massive transfusion protocol, major bleeding, haemostasis.

Introduction

Major blood loss (MBL) requires an immediate response to stop the bleeding and optimization of hemo-dynamics by so-called damage control resuscitation (DCR) protocols⁽¹⁾. However, the additional presence of and compliance⁽²⁾ to massive transfusion protocols (MTP)⁽³⁾ ensuring the fastest possible availability of blood products also influence mortality. Validated clinical scoring systems should already identify the patients that likely progress to MBL and thus will need fast initiation of massive transfusion support. For trauma patients in particular, a subsequent and timely switch from dilution with intravenous fluids as hemodynamic support, to evidence-based ratios of plasma and red blood cells (RBC) is critical. Of particular importance in bleeding, and besides their role as oxygen carrier,

RBC also optimize blood platelet dependent primary haemostasis, while plasma derived coagulation factors enforce the haemostatic plug. The here presented evidence about whom, what (ratio of) blood products, with what timing⁽⁴⁾ are most effective in patients with acute major blood loss is of clear relevance⁽⁵⁾. Indeed, for trauma patients, exsanguination still accounts for 30% to 40% of mostly early (within 3 hours) deaths⁽⁶⁾; also for postpartum haemorrhage -in 3 to 8% of all deliveries- blood loss accounts for almost one fifth of maternal deaths⁽⁷⁾.

How to identify patients at risk for massive transfusion?

Even by experts⁽⁸⁾, estimation of MBL appears unreliable and post-hoc identification of patients that

received major transfusion support is not of use to prevent such⁽⁹⁾. Practical scores like the Critical Administration Threshold (CAT)⁽¹⁰⁾, the shock index⁽¹¹⁾ and the Assessment of Blood Consumption (ABC)⁽¹²⁾, help to predict the need for massive transfusion (MT) and justify the start of MTP. Important in on-going bleeding, these scores are based on immediate available clinical (like heart rate, systolic blood pressure, penetrating injury, hemoperitoneum etc.) parameters. For such scores to remain actual, they should logically be repeated (e.g. hourly like in CAT) but in our opinion, also include the rates and total volume of the initiated fluid support as a measure of 'pre-dilution'⁽⁹⁾. As soon as intrinsically-delayed laboratory (like Hb, Hb drop, INR, fibrinogen) show (trends towards) stabilization or when validated point of care parameters (i.e. TEG and ROTEM) become available, 'goal-directed transfusion and coagulation' therapy becomes warranted⁽⁵⁾.

What blood product (ratios) to transfuse?

RBC, plasma and coagulation factors

Notwithstanding the valued concept of 'permissive hypotension', both in trauma as well as in non-trauma patients with MBL, hemodynamic support starts with administration of more or less large amounts of intravenous fluids. This strategy obligatory dilutes the haemostatic potential, and likely also outcome. Even in the absence of Acute Coagulopathy of Trauma (ACoT)⁽¹³⁾, especially colloid fluids increase fibrinolysis, impair platelet function, fibrin polymerization and lower von Willebrand levels^(14,15).

Both retrospective as well as prospective cohort studies like PROMMTT already showed that DCR incorporating plasma and RBC in ratios of 1:1 or 1:2 improved short (6 and 24 hrs.) as well as longer (30 days) term survival with a decrease in overall need for blood products. However, because higher ratios are likely to involve patients that live longer anyway and hence are more prone to receive more plasma, RCT derived proof had to be awaited⁽¹⁶⁻¹⁸⁾.

In the landmark PROPPR trial, 680 of more than 11000 on ABC scores screened patients were randomized between more liberal plasma use vs. RBC in the 1:1 ratio versus a 1:2 ratio. While no significant difference in 30 days mortality was detected, hemostasis was achieved in more patients and less 24 hrs.-deaths by bleeding occurred in the 1:1 group⁽¹⁹⁾.

Very important to first realize is, that the overall mortality of PROPPR patients, irrespective of the study arm, was already reduced by their participation to the trial. As iterated in more detail in the following paragraph, the very early start of the MTP and thus plasma availability by the rigorous study logistics explain this and automatically result in less differences than the studied ratios could have had in normal life. Second, the added hemostatic potential calculated as clotting factors of the 1:1 ratio is only slightly superior to the 1:2 ratio⁽²⁰⁾ and will likely make less difference in more diluted and thus patients with a higher risk to die⁽²¹⁾. Third, a risk score based MTP initiation -as is standard in such trials- will also involve patients that don't need an MTP. One can never know this beforehand, but the better outcome of such patients will neither be influenced by different plasma-RBC ratios. Finally, although not a limitation of the PROPPR results, in real life, only 10 % of MTP involve trauma patients. In this respect, only for the 'more prediluted' trauma patient, early plasma administration in MTP will be of specific importance⁽²²⁾. Indeed, although in a retrospective study design, the received plasma: RBC ratio did not differ between 30 days surviving and non-surviving non-trauma patients⁽²²⁾.

Notwithstanding the fact that 1:1 plasma, RBC ratios are nowadays default in MTP guidelines⁽²³⁾, it seems logical that more disturbed hemostasis e.g. by ACoT or dilution by iv. fluids might not benefit enough by optimized ratios of blood products. In such conditions or when plasma is not available, several trials have or are attempting to show feasibility⁽²⁴⁾ and effectivity of early administration of fibrinogen without⁽²⁵⁾ or with on TEG/ ROTEM results titrated other purified coagulation factors^(5, 26-29). Such strategies obviously should show reduced mortality and with it less need for blood products.

Platelets

While several recent reports indicate that platelet administration could unexpectedly be detrimental^(30, 31), in most studies and similar in the study arms, platelets are given along with RBCs and plasma. Hence, their influence on hemostasis is hard to interpret. Surely, platelet counts in trauma patients will decrease by their consumption in on-going hemostasis and the dilution by iv. administered plasma or other fluids. From a hemostatic perspective,

lowering of platelet counts, however, is known to be less critical as compared to lowering of the RBC mass or hematocrit⁽³²⁾.

This is caused by the fact that platelet-dependent hemostasis is strongly dependent on the RBC-mediated margination of blood platelets towards the vascular boundary layer. Isolated lowering of blood platelet counts therefore is having a relatively small influence on the hemostatic capacity. Together with their early expiration and the more complicated storage conditions required for blood platelets, starting MTP with only RBCs and plasma might not make a big difference. The delayed versus immediate use of blood platelets should, however, be investigated together with the use of cold stored platelets. The latter namely, being intrinsically activated, might be superior in halting MBL.

How to manage an early start of blood products?

As shown above, trials like PROPPR⁽¹⁹⁾, but also those testing fibrinogen and clotting factor concentrates vs. plasma not only compare products but also differences in the timing of hemostatic support. In this respect, with the near perfect logistics as implemented in the PROPPR study^(19, 33), median times of MTP activation and arrival of blood products were both reduced to less than 10 minutes. More standard for normal logistics is that initiation of plasma transfusions on average takes 90 minutes^(34, 35). As said, although the 2 study arms did not differ much, the PROPPR logistics coincided with a 10% decrease in 30-day mortality as compared to historical conditions. Separate analysis moreover showed that every minute of delay between MTP activation and administration of blood products gave a 5% odds increase in mortality⁽³³⁾.

While in PROPPR⁽³³⁾ pre-thawed plasma was shipped, standard presence of thawed plasma at the emergency department can also speed up its availability⁽³⁴⁾. Longer term pre-thawing, however, will lead to gradual loss of coagulation capacity, an additional risk for bacterial contamination and more plasma expiration and thus net use. The inventory could in this respect become threatened especially if -to avoid minor ABO incompatibility-, we only consider the rare AB plasma for MTP. An interesting study in this respect showed that patients with blood groups B and AB receiving minor incompatible A plasma, experienced no increase in morbidity or mortality as

compared to patients receiving only ABO compatible AB plasma. While, hemolysis so far has not been actively screened for^(36, 37), pooled pathogen reduced plasma products with averaged antibody titers, might also reduce this seemingly acceptable risk of minor incompatibility.

Maximal reduction of death by exsanguination, might further be obtained by pre-hospital or remote DMR⁽³⁸⁾ with (O negative) RBC units and pre-thawed or even lyophilized plasma. In this respect, pre-hospital use of thawed plasma in the so called PAMP trial indeed resulted in decreased 30-day mortality as compared to standard care⁽³⁹⁾. Similar trials will soon show if this is reproducible^(40, 41). Lyophilized plasma furthermore can be stored at room temperature and is reconstituted in approximately 6 minutes. Randomized against frozen plasma (FFP), lyophilized plasma (FLyP) in this respect already confirmed its potential for much faster administration⁽³⁵⁾. Although other blood product's use, and 30-day mortality were not significantly reduced in this more limited size trial, both again showed favorable trends⁽⁴²⁾.

Near future objectives

Arranging fast implementation of effective MTP in hospitals should be our first aim⁽⁴³⁾. In this respect, in the period 2009-2011 only 2% of UK trauma patients were found to receive plasma and RBCs in $\geq 1:2$ ratios⁽⁴⁴⁾ and even in PROMMTT centers, 70% of patients did not get 1:1 ratios within one hour⁽⁶⁾. Presence of thawed or lyophilized A or AB plasma not only at the institution's blood bank but at the emergency ward will help in this respect^(36, 37). The benefit of platelet transfusions in initial MTP is still to be determined. To specifically stop bleeding, cold stored platelets could be superior and should be studied as well^(45, 46). However, all mentioned measures to reduce mortality from exsanguination, involve the entire transfusion chain. Only empowered multidisciplinary hospital oversight will be able to ensure their eventual success.

Take home messages:

- Bleeding patients at risk for death by exsanguination can be identified with simple but repeated scoring algorithms as basis for fast initiation of MTP.
- To preserve the hemostatic capacity in MBL, limiting dilution and fast addition of plasma in equal ratios with RBC are advised; in trauma patients this

will improve acute survival.

- Availability of lyophilized or thawed plasma at the emergency ward or even pre-hospital, will significantly speed up such MTP with proper plasma vs RBC ratios.

- Administration of fibrinogen with or without concentrated coagulation factors (fibrinogen) most preferably based on point of care (TEG/ ROTEM) assays could be of benefit when significant ACoT and/ or non-plasma induced dilution of the hemo-

static capacity is present.

Conflicts of interest

The author has received speaker fees from Vifor pharma, Novartis, Amgen and served as temporarily scientific advisor for Bioverativ. He is furthermore employed by and received research grants of Sanquin the Dutch blood supply organization. These activities have no direct relation with and thus have not influenced the content of this article whatsoever.

Bibliografía

- Shrestha B, Holcomb JB, Camp EA et al. Damage-control resuscitation increases successful nonoperative management rates and survival after severe blunt liver injury. *J Trauma Acute Care Surg.* 2015;78:336-41.
- Bawazeer M, Ahmed N, Izadi H et al. Compliance with a massive transfusion protocol (MTP) impacts patient outcome. *Int J. Care Injured.* 2015;46:21-8.
- Maciel JD, Gifford E, Plurad D, de Virgillio C, Bricker S, Bongard F et al. The impact of a massive transfusion protocol on outcomes among patients with abdominal aortic injuries. *Ann Vasc Surg.* 2015; 29:764-9.
- Sisak K, Manolis M, Hardy BM et al. Acute transfusion practice during trauma resuscitation: who, when, where and why? *Injury* 2013;44:581-6.
- Rossaint R, Bouillon B, Cerny V et al. The European guideline on management of major bleeding and coagulopathy following trauma: fourth edition. *Crit Care.* 2016; 20:1-55.
- Holcomb JB, Del Junco DJ, Fox EE et al. The prospective, observational, multicenter, major trauma transfusion (PROMMTT) study: comparative effectiveness of a time-varying treatment with competing risks. *JAMA Surg.* 2013; 148:127-36.
- Say L, Chou D, Gemmill A et al. Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis. *The Lancet Global Health.* 2014; 2: 323-33.
- Pommerening MJ, Goodman MD, Holcomb JB et al. On behalf of the PROMMTT Study Group. Clinical gestalt and the prediction of massive transfusion after trauma. *Injury.* 2015; 46:807-13.
- Moren A. Recursive Partitioning Identifies Greater Than 4 Units of PRBC's Per Hour as an Improved Massive Transfusion Definition. *J Trauma Acute Care Surg.* 2015;79(6):920-4.
- Savage SA, Sumislawski JJ, Zarzaur BL et al. The new metric to define large volume hemorrhage: results of a prospective study of the critical administration threshold. *J Trauma Acute Care Surg.* 2015; 78:224-30.
- Nathan HL, El Ayadi A, Hezelgrave NL et al. Shock index: an effective predictor of outcome in postpartum haemorrhage? *BJOG: an International Journal of Obstetrics and Gynaecology.* 2015;122: 268-75.
- Nunez TC, Voskresensky IV, Dossett LA et al. Early prediction of massive transfusion in trauma: Simple as ABC (assessment of blood consumption)? *J Trauma.* 2009;66(2):346-52.
- Holcomb JB, Jenkins D, Rhee P et al. Damage control resuscitation: Directly addressing the early coagulopathy of trauma. *J Trauma.* 2007;62(2):307-10.
- Bolliger D, Gorlinger K, Tanaka KA. Pathophysiology and treatment of coagulopathy in massive hemorrhage and hemodilution. *Anesthesiology.* 2010; 113:1205-19.
- Cohen MJ, Kutcher M, Redick B. Clinical and mechanistic drivers of acute traumatic coagulopathy. *J Trauma Acute Care Surg.* 2013; 75: S40-7.
- Zink KA, Sambasivan CN, Holcomb JB et al. A high ratio of plasma and platelets to packed red blood cells in the first 6 hours of massive transfusion improves outcomes in a large multicenter study. *The American*

- Journal of Surgery. 2009;197: 565-70.
17. Holcomb JB, Wade CE, Michalek JE et al. Increased plasma and platelet to red blood cell ratios improves outcome in 466 massively transfused civilian trauma patients. *Ann Surg.* 2008; 248 :447-58.
 18. Kutcher ME, Kornblith LZ, Vilardi RF et al. The natural history and effect of resuscitation ratio on coagulation after trauma: a prospective cohort study. *Ann Surg.* 2014; 260:1103-11.
 19. Holcomb JB, Tilley BC, Baraniuk S et al. Transfusion of plasma, platelets, and red blood cells in a 1:1:1 vs. a 1:1:2 ratio and mortality in patients with severe trauma: the PROPPR Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2015; 313:483-94.
 20. Kornblith LZ, Howard BM, Cheung CK et al. The whole is greater than the sum of its parts: hemostatic profiles of whole blood variants. *J Trauma Acute Care Surg.* 2014; 77:818-27.
 21. Muller MCA, Straat M, Meijers JCM et al. Fresh frozen plasma transfusion fails to influence hemostatic balance in critically ill patients with a coagulopathy. *J of Thromb and Haemost.* 2015;13: 989-97.
 22. Mesar T, Larentzakis A, Dzik W et al. Association between ratio of fresh frozen plasma to red blood cells during massive transfusion and survival among patients without traumatic injury. *JAMA Surg.* 2017;152(6):574-80.
 23. Murphy CH and Hess JR. Massive transfusion: red blood cell to plasma and platelet unit ratios for resuscitation of massive hemorrhage. *Curr Opin Hematol.* 2015; 22:533-9.
 24. Curry N, Foley C, Wong H et al. Early fibrinogen concentrate therapy for major haemorrhage in trauma (E-FIT 1): results from a UK multi-centre, randomized, double blind, placebo-controlled pilot trial. *Crit Care.* 2018;22:164.
 25. Mengoli C, Franchini M, Marano G et al. The use of fibrinogen concentrate for the management of trauma-related bleeding: a systematic review and meta analysis. *Blood Transfus.* 2017;15: 318-24.
 26. Wikkelsø A, Wetterslev J, Møller AM et al. Thromboelastography (TEG) or thromboelastometry (ROTEM) to monitor haemostatic treatment versus usual care in adults or children with bleeding (Review). *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2016, Issue 8.
 27. Baksaas-Aasen K, Gall L, Eaglestone S et al. iTAC-TIC - implementing treatment algorithms for the correction of trauma induced coagulopathy: study protocol for a multicenter, randomized controlled trial. *Trials.* 2017;18-486.
 28. Zeeshan M, Hamidi M, Feinstein AJ, Gries L, Jehan F, Sakran J et al. 4-Factor Prothrombin Complex Concentrate is associated with Improved Survival in Trauma Related Hemorrhage: A Nationwide Propensity Matched Analysis. *J Trauma Acute Care Surg.* 2019 Mar 15.
 29. Innerhofer P, Fries D, Mittermayr M, Innerhofer N, von Langen D, Hell T et al. Reversal of trauma-induced coagulopathy using first-line coagulation factor concentrated or fresh frozen plasma (RETIC): a single-centre, parallel-group, open-label, randomized trial. *Lancet Haematol.* 2017;4: e258-71.
 30. Curley A, Stanworth SJ, Phil D, Willoughby K, Fustolo-Gunnink SF, Venkatesh V et al. Randomized trial of platelet-transfusion thresholds in neonates. *NEJM.* 2019; 380: 242-51.
 31. Baharoglu MI, Cordonnier C, Salman RA-S, de Gans K, Koopman MM, Brand A et al. Platelet transfusion versus standard care after acute stroke due to spontaneous cerebral haemorrhage associated with antiplatelet therapy (PATCH): a randomized, open-label phase 3 trial. *Lancet.* 2016;387:2605-13.
 32. Valeri CR, Cassidy G, Pivacek LE, Ragno G, Lieberthal W, Crowley JP et al. Anemia-induced increase in the bleeding time: implications for treatment of non-surgical blood loss. *Transfusion.* 2001;41:977-83.
 33. Meyer DE, Vincent LE, Fox EE, O'Keeffe T, Inaba K, Bulger E et al. Every minute counts: Time to delivery of initial massive transfusion cooler and its impact on mortality. *J Trauma Acute Care Surg.* 2017; 83:19-24.
 34. Radwan ZA, Bai Y, Matijevic N, del Junco DJ, McCarthy JJ, Wade CE et al. An emergency department thawed plasma protocol for severely injured patients. *JAMA Surg.* 2013;148:170-5.
 35. Nguyen C, Bordes J, Cungi PJ, Esnault P, Cardinale M, Mathais Q et al. Use of French lyophilized plasma transfusion in severe trauma patients is associated with an early plasma transfusion and early transfusion ratio improvement. *J Trauma Acute Care Surg.* 2018;84:780-5.
 36. Goodman MD. Incompatible type A plasma transfusion in patients requiring massive transfusion protocol: Outcomes of an Eastern Association for the Surgery of Trauma multicenter study. *J. Trauma Acute Care Surg.* 2017;83: 25-9.
 37. Zielinski MD, Schrager JJ, Johnson P, Stubbs JR, Polites S, Zietlow SP et al. Multicenter comparison of emergency release group A versus AB plasma in

- blunt-injured trauma patients. *Acute Care Surg.* 2013; 74: 69-75.
38. Jenkins D, Rappold JF, Badloe, JF et al. Trauma hemostasis and oxygenation research position paper on remote damage control resuscitation: definitions, current practice, and knowledge gaps. *Shock.* 2014; 41(Suppl. 1) 3-12.
 39. Sperry JL, Guyette FX, Brown JB, Yazer MH, Triulzi DJ, Early-Young BJ et al. Prehospital plasma during air medical transport in trauma patients at risk for hemorrhagic shock. *NEJM.* 2018; 379:315-26.
 40. Smith IM, Crombie N, Bishop JR, McLaughlin A, Naumann DN, Herbert M et al. RePHILL: protocol for a randomised controlled trial of pre-hospital blood product resuscitation for trauma *Transfusion Medicine* 2018;28:346-56.
 41. Reynolds PS, Michael JM, Cochran ED, Wegelin J and Spiess BD. Prehospital use of plasma in traumatic hemorrhage (The PUPTH Trial): study protocol for a randomised controlled trial *Spies1 Clinical Trials Gov: NCT02303964 Trials.* 2015; 16:321-8.
 42. Garrigue D, Godier A, Glacet A, Labreuche J, Kipni E, Paris C et al. French lyophilized plasma versus fresh frozen plasma for the initial management of trauma-induced coagulopathy: a randomized open-label trial. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 2017;16:1-9.
 43. Heelan Gladden AA, Peltz ED, McIntyre RC Jr, Vega S, Krell R, Velopulos C et al. Effect of Pre-Hospital Use of the Assessment of Blood Consumption Score and Pre-Thawed Fresh Frozen Plasma on Resuscitation and Trauma Mortality. *J Am Coll Surg.* 2019 ;228:141-7.
 44. Stanworth SJ, Davenport R, Curry N, Seeney F, Eaglestone S, Edwards A, Martin K, Allard S, Woodford M, Lecky FE, Brohi K. Mortality from trauma haemorrhage and opportunities for improvement in transfusion practice. *Br J Surg.* 2016;103 :357-65.
 45. Nair PM, Pandya SG, Dallo SF, Reddoch KM, Montgomery RK, Pidcock HF et al. Platelets stored at 4°C contribute to superior clot properties compared to current standard-of-care through fibrin-crosslinking. *Brit J of Haematol.* 2017; 178:119-29.
 46. Stubbs JR, Tran SA, Emery RL, Hammel SA, Haughen dAL, Zielinski MD et al. Cold platelets for trauma-associated bleeding: regulatory approval, accreditation, and practice implementation- just the ‘tip of the iceberg’. *Transfusion.* 2017;57: 2836-44.



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.

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 Anatómo-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 23 n° 2: 100-101
Mayo - Agosto 2019

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

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 23 n° 2: 102-103
Mayo - Agosto 2019

- 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

NUEVA
ALTERNATIVA TERAPÉUTICA

CALQUENCE® GO STRONG

CALQUENCE® es un inhibidor de la Tirosina Quinasa de Bruton (BTK) indicado para el tratamiento de pacientes adultos con Linfoma de Células del Manto (LCM) que hayan recibido al menos una terapia previa.

AR-1415



CALQUENCE® (acalabrutinib) 100 mg cápsulas

Sólida EFICACIA comprobada a 26,3 meses en pacientes con Linfoma de Células del Manto Recaído / Refractario

Resultados a una mediana de seguimiento de 15.2 meses

- ♦ 80% ORR [95% CI: 72,87]¹
- ♦ 40% CR [95% CI: 31,49]¹

Resultados a una mediana de seguimiento de 26.3 meses

- ♦ 81% ORR [95% CI: 73,87]²
- ♦ 43% CR [95% CI: 34,52]²
- ♦ Mediana de DoR de 25.7 meses
- ♦ Mediana de PFS de 19,5 meses

-  **POTENTE** inhibidor de la BTK de **SEGUNDA GENERACIÓN**, con un mecanismo de acción **IRREVERSIBLE y SELECTIVO**¹⁻³
-  **EFICACIA** demostrada con **RESPUESTAS DURADERAS**¹
-  **BUEN PERFIL** de **SEGURIDAD** comprobado a 26,3 meses¹
-  **INHIBICIÓN CONTINUA** de BTK con un esquema de dosificación 2 veces al día¹

1 Información para prescribir de Calquence. Wilmington, DE: AstraZeneca Pharmaceuticals LP, 2017. 2 Data on file, REF-43179, AstraZeneca Pharmaceuticals LP. 3 Hendriks RW, Yuvaraj S, Kil LP. Targeting Bruton's Cancer, 2014; 14(4): 319-232. * Evaluado por el Comité de Revisión Independiente según los criterios de respuesta de la Clasificación de Lugano 2014. + Evaluado por el Investigador según los criterios de respuesta de la Clasificación de Lugano 2014. ‡ La mediana de seguimiento de la DoR fue de 26,3 meses (rango de 0,3 a 35,1 meses). CR = Respuesta Completa, DoR = Duración de la Respuesta, ORR = Tasa de Respuesta Global, PFS = Supervivencia Libre de Progresión, BTK = Tirosina Kinasa de Bruton.



FARMACOVIGILANCIA
farmacovigilancia@astrazeneca.com



**Servicio de
Información
Médica**
deplomedico@astrazeneca.com

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

AstraZeneca



Especialidad medicinal autorizada por el Ministerio de Salud Certificado N° 59002



MÁS EFICACIA MÁS POSIBILIDADES

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

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

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

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

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

² Administración oral simplificada.

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

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

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

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

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

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



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

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



Información para prescribir
disponible en el código QR

AR/MVT/18/0027