

# HEMATOLOGIA

## ARTÍCULO ORIGINAL

Leucemias agudas pediátricas con alteraciones en el gen KMT2A: experiencia en los últimos 20 años en una institución

Eficacia de la inmunización contra SARS-COV2 en pacientes con hemopatías primarias

Trasplante alogénico versus quimioterapia como terapia de postremisión en pacientes adultos de riesgo intermedio y desfavorable con leucemia mieloblástica aguda

Estudio comparativo de 4 métodos de dímero D en una serie de muestras de pacientes COVID-19

Prevalencia y persistencia de anticoagulante lúpico en pacientes con neumonía por COVID-19

## ARTÍCULO DE REVISIÓN

Valor pronóstico de las anomalías genéticas en mieloma múltiple

## CASO CLÍNICO

Déficit de MPO detectado por sistema PANDA. Reporte de un caso

Aplasia eritrocítica pura y síndrome antifosfolípido primario: una asociación autoinmune

Leucemia agresiva de células natural killer

## COMUNICACIÓN BREVE

Reacción leucoeritroblástica en pacientes con enfermedad por COVID-19

## PEDIATRÍA

Síndrome "stroke-like" en leucemia linfoblástica aguda pediátrica

## LABORATORIO

Sistema PANDA: fórmula automatizada basada en actividad de peroxidasa

## IMÁGENES EN HEMATOLOGÍA

Linfohistiocitosis hemofagocítica secundaria a Toxoplasma post-trasplante haploidéntico de progenitores hematopoyéticos





# HEMATOLOGÍA

## ÓRGANO DE DIFUSIÓN DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE HEMATOLOGÍA

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

Red Iberoamericana de Innovación y Conocimiento Científico - REDIB, DOAJ

ISSN: 0329-0379 (versión impresa)

ISSN: 2250-8309 (versión en línea)



### Comisión Directiva

**Presidente:** Dr. Juan Dupont - Cemic, CABA, Argentina **Vice-Presidente:** Dra. Juliana Martínez Rolón - Fundaleu, CABA, Argentina **Secretario General:** Dr. Daniel Gotta - Hospital Justo José de Urquiza, Entre Ríos, Argentina  
**Secretaria de Actas:** Dra. Natalia Schutz – Hospital Italiano, CABA, Argentina  
**Tesorera:** Dra. María de los Angeles Vicente Reparaz - Hospital Alemán, CABA, Argentina  
**Director:** Dr. José Ceresetto, Hospital Británico, CABA

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

### Comité Editor

Brodsky, Andrés - Hospital de Clínicas J de San Martín, Bs. As., Argentina  
Deana, Alejandra - Hospital Posadas, El Palomar, Bs. As., Argentina  
Fantl, Dorotea - Hospital Italiano de Bs. As., Bs. As., Argentina  
Martinuzzo, Marta - Hospital Italiano de Bs. As., Bs. As., Argentina  
Verón, David - Hospital Universitario Austral, Bs. As., Argentina

Mariela Escalante  
Producción y Comercialización

Glicela Díaz  
Diseño Gráfico

Dr. Gustavo Chiappe  
Corrector Gramatical

### Consejo Científico Asesor

Arbelbide Jorge  
Hospital Italiano, CABA, Argentina  
Aversa, Luis  
Hospital de Niños R Gutiérrez,  
CABA, Argentina  
Bengiό, 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 Goycoechea, Diego  
CHUV (Centre Hospitalier  
Universitaire Vaudois), Lausanne - Suiza  
Dibar, Eduardo  
Hospital Italiano, CABA, Argentina  
Di Ghiero, Guillermo  
Inst. Pasteur de Montevideo, Uruguay  
Donato, Hugo  
Hospital de Niños, San Justo,  
Bs. As., Argentina  
Dupont, Juan  
CEMIC - CABA, Argentina  
Erramouspe, Beatriz  
Hospital César Milstein,  
CABA, Argentina

Feldman, Leonardo  
Fund. Favalaro, 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. Favalaro, CABA, Argentina  
Guillermo, Cecilia  
Hospital de Clínicas Dr. M. Quintela,  
Montevideo, Uruguay  
Heller, Paula  
IDIM E Lanari, CABA, Argentina  
Iastrebner, Marcelo  
Sanatorio Sagrado Corazón,  
CABA, Argentina  
Jaimovich Gregorio  
Fund. Favalaro - S. Anchorena.  
CABA, Argentina  
Kordich, Lucía  
Fac Ccias Exactas, UBA, CABA, Argentina  
Korin, Jorge  
Sanatorio Los Arcos, CABA, Argentina  
Kuperman, Silvana  
Hospital de Pediatría Garrahan  
Bs. As., Argentina  
Kusminsky, Gustavo  
Hospital Austral, Pilar, Bs. As., Argentina

Larripa, Irene  
Academia Nacional de Medicina,  
CABA, Argentina  
Lazarowski, Alberto  
Fac Farmacia y Bioquímica UBA,  
CABA, Argentina  
Martínez Rolón, Juliana  
FUNDALEU, CABA, Argentina  
Mateos, María Victoria  
Complejo Asistencial Universitario  
de Salamanca/BSAL. España  
McLintock Claire  
National Womens Health,  
City Hospital, Auckland, New Zealand  
Milone, Jorge  
Hospital Italiano, La Plata, Argentina  
Milovic, Vera.  
Hospital Alemán, CABA, Argentina.  
Moiraghi, Beatriz  
Hospital J.M. Ramos Mejía,  
CABA, Argentina  
Neme, Daniela  
Fundación de la Hemofilia.  
CABA, Argentina  
Nucifora, Elsa  
Hospital Italiano, CABA, Argentina  
Oleastro Matías  
Hospital Garrahan, CABA, Argentina  
Pavlovsky, Astrid  
Centro de Hematología Pavlovsky.  
CABA, Argentina  
Picón, Armando  
Hospital Posadas, Bs. As., Argentina  
Pizzolato, Marco  
Fac Farmacia y Bioquímica UBA,

CABA, Argentina  
Ponzinibbio, Carlos  
Hospital Italiano, Bs. As., Argentina  
Prates, Virginia  
Hosp. Italiano, La Plata, Argentina  
Quiroga, Luis  
Hospital Churruca, 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  
Torres, Oscar  
Maternidad Sardá. CABA, Argentina  
Wannesson, Luciano  
Instituto Oncológico della Svizzera Italiana  
Bellinzona, Suiza  
Zerga, Marta  
Hospital Roffo, CABA, Argentina

**VOLUMEN 25 Nº 3 • Septiembre - Diciembre 2021 • Publicada en Diciembre de 2021 • 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



# En Mieloma Múltiple, DARZALEX® (daratumumab) ha demostrado eficacia con múltiples esquemas y líneas de tratamiento.<sup>1</sup>



1. Referencia: Prospecto Darzalex®

## Primera Línea Elegibles a trasplante autólogo de células madre

### DARZALEX® + Vtd

daratumumab + bortezomib  
+ talidomida + dexametasona

ESTUDIO CASSIOPEIA

## Primera Línea No Elegibles a trasplante autólogo de células madre

### DARZALEX® + Rd

daratumumab + lenalidomida  
+ dexametasona

ESTUDIO MAIA

### DARZALEX® + VMP

daratumumab + bortezomib  
+ melfalán + prednisona

ESTUDIO ALCYONE

## Pacientes recaídos o refractarios

### DARZALEX® + Rd

daratumumab + lenalidomida  
+ dexametasona

ESTUDIO POLLUX

### DARZALEX® + Kd

daratumumab + carfilzomib  
+ dexametasona

ESTUDIO CANDOR

### DARZALEX® + Vd

daratumumab + bortezomib  
+ dexametasona

ESTUDIO CASTOR

### DARZALEX® + Pd

daratumumab + pomalidomida  
+ dexametasona

ESTUDIO EQUULEUS

### DARZALEX® monoterapia

daratumumab monoterapia

ESTUDIO SIRIUS



Acceda al prospecto de DARZALEX® para Argentina escaneando el código QR en su dispositivo móvil. Puede también acceder a la información para prescribir en la sección de productos de nuestra página web: [www.janssen.com](http://www.janssen.com)

Para consultas, solicitudes, pedidos de búsquedas bibliográficas, reporte de eventos adversos y/o reclamos de calidad por favor comunicarse a:

**INFO Janssen**  
Información Científica  
[www.janssen.com](http://www.janssen.com)

ARGENTINA

[infojanssen@janar.jnj.com](mailto:infojanssen@janar.jnj.com)  
**0800 122 0238**

**janssen** Oncology  
PHARMACEUTICAL COMPANIES OF *Johnson & Johnson*

# HEMATOLOGÍA

## ARGENTINA

VOLUMEN 25 Nº 3 • Diciembre 2021

### CONTENIDO

AGRADECIMIENTO 2021 .....	9
ARTÍCULO ORIGINAL	
<b>Leucemias agudas pediátricas con alteraciones en el gen KMT2A: experiencia en los últimos 20 años en una institución</b> <i>Peruzzo L, Deu M, Pennella C, Sánchez La Rosa C, Alfaro E, Rubio P, Rossi J, Baialardo E, Gutter M, Felice M.....</i>	10
<b>Eficacia de la inmunización contra SARS-COV2 en pacientes con hemopatías primarias</b> <i>De Luca T, Otermin F, Szelagowski M, Vernengo J, Curciarello R, Rizzo G, Tau L, Delaplace L, Rumbo M, Docena G, Milone J.....</i>	18
<b>Trasplante alogénico versus quimioterapia como terapia de postremisión en pacientes adultos de riesgo intermedio y desfavorable con leucemia mieloblástica aguda.</b> <i>Dick, H.....</i>	26
<b>Estudio comparativo de 4 métodos de dímero D en una serie de muestras de pacientes COVID-19</b> <i>Rosa C, Zirpoli M, Sueldo E, Arias M, Ceresetto J, Duboscq C.....</i>	34
<b>Prevalencia y persistencia de anticoagulante lúpico en pacientes con neumonía por COVID-19</b> <i>Rivarola S, Duboscq C, Cantillo García A, Carreras M, Zapata L, Ávila Rueda J, Oliveros K, Sernaque C, Flegler N, Quarchioni M, Shanley C, Palmer S, Stemmelin G, Ceresetto JM.....</i>	45
ARTÍCULO DE REVISIÓN	
<b>Valor pronóstico de las anomalías genéticas en mieloma múltiple</b> <i>Flavia Stella, Leticia Giselle Guash, Estela Pedrazzini, Irma Slavutsky .....</i>	53
CASO CLÍNICO	
<b>Déficit de MPO detectado por sistema PANDA. Reporte de un caso</b> <i>Almirón MN, Arias M.....</i>	64

<b>Aplasia eritrocítica pura y síndrome antifosfolípido primario: una asociación autoinmune</b> <i>Ghayad E, Kadri Z, Haddad F</i> .....	68
<b>Leucemia agresiva de células natural killer</b> <i>Auat M, Verdie J, Halperin N, Cabral C, Altube A</i> .....	72
COMINICACIÓN BREVE	
<b>Reacción leucoeritroblástica en pacientes con enfermedad por COVID-19</b> <i>Osycka V, Sepe L, Cicchini S, Domínguez Pose L, López I</i> .....	79
PEDIATRÍA	
<b>Síndrome "stroke-like" en leucemia linfoblástica aguda pediátrica</b> <i>Ferraro CL, Soria ME, Morán LE, Prada S, Palomar N, Escobar N, Manente R, Schwalb G, Wittmund L, Gutiérrez ME, Basack N, Attie M, Drelichman G</i> .....	84
LABORATORIO	
<b>Sistema PANDA: fórmula automatizada basada en actividad de peroxidasa</b> <i>Almirón M, Arias M</i> .....	89
IMÁGENES EN HEMATOLOGÍA	
<b>Linfocitosis hemofagocítica secundaria a Toxoplasma post-trasplante haploidéntico de progenitores hematopoyéticos</b> <i>Wernicke GJ, Castro MB, Castellanos LR, Sánchez AG, Sánchez AV, Ricchi B, Basquiera AL</i> .....	92



HAGA DE  
**imbruvica**<sup>®</sup>  
SU PRIMER PASO

**DESAFIANDO LOS LÍMITES  
DE LA TERAPIA ACTUAL**

1. Referencia: Long-term efficacy and safety of first-line ibrutinib treatment for patients with CLL/SLL: 5 years of follow-up from the phase 3 RESONATE-2 study  
Jan A. Burger Leukemia (2020) 34:787-798

**7 de cada 10 pacientes con LLC tratados  
con IMBRUVICA<sup>®</sup> en primera línea están vivos  
y libres de enfermedad a 5 años de haber  
iniciado tratamiento<sup>1</sup>**



Acceda al prospecto de IMBRUVICA<sup>®</sup> para Argentina escaneando el código QR en su dispositivo móvil. Puede también acceder a la información para prescribir en la sección de productos de nuestra página web: [www.janssen.com](http://www.janssen.com)

Para consultas, solicitudes, pedidos de búsquedas bibliográficas, reporte de eventos adversos y/o reclamos de calidad por favor comunicarse a:

**INFO Janssen**  
**Información Científica**  
[www.janssen.com](http://www.janssen.com)

**ARGENTINA**

[infojanssen@janar.jnj.com](mailto:infojanssen@janar.jnj.com)  
**0800 122 0238**

**janssen**  **Oncology**  
PHARMACEUTICAL COMPANIES OF *Johanson-Johanson*

A photograph of a man and a young girl in a close embrace. The man, on the left, has a beard and is wearing a blue and white striped shirt. The girl, on the right, has blonde hair and is wearing a floral dress with blue, red, and white patterns. They are outdoors with a blurred green background. The text 'IMPULSADOS POR NUESTRA PROMESA' is overlaid in white on the right side of the image.

**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](http://www.cslbehring.com.ar)

**CSL Behring**  
Bioterapias para la vida™

ARG-NA-0026

# AGRADECIMIENTO



La Revista **HEMATOLOGÍA** agradece a todos los profesionales que se han desempeñado como revisores de los artículos publicados durante el año 2021:

Casais, Patricia  
Castro Ríos, Miguel  
Cugliari, Silvina  
Custidiano, Rosario  
Duarte, Patricio  
Fantl, Dorotea  
Fernández, Isolda  
Foncuberta, Cecilia  
Guillermo, Cecilia  
Korin, Jorge  
Kuperman, Silvina  
Kusminsky, Gustavo  
Martinuzzo, Marta  
Pavlovsky, Miguel  
Ponzinibbio, Carlos  
Riveros, Dardo  
Rosa, Claudio  
Rossi, Andrea  
Sackman, Federico  
Slavutsky, Irma  
Tartas, Norma  
Torres, Oscar  
Zerga, Marta

**Muchas Gracias**  
COMITÉ EDITOR  
REVISTA HEMATOLOGÍA

EN EL TRATAMIENTO DEL  
MIELOMA MÚLTIPLE, MYVITLA®  
OFRECE RESISTENCIA DE

# LARGA DURACIÓN

EFICACIA PROLONGADA • TOLERABILIDAD MANEJABLE • RÉGIMEN CONVENIENTE BASADO EN IP COMPLETAMENTE ORAL



**MYVITLA® está indicado en combinación con lenalidomida y dexametasona para el tratamiento de pacientes adultos con mieloma múltiple que recibieron al menos un tratamiento previo.**

**La SLP extendida con MYVITLA® + Rd vs. placebo + Rd (mSLP 20,6 vs. 14,7 HR=0,742, P=0,012; pacientes con citogenética de alto riesgo mSLP 21,4 vs. 9,7 HR=0,54) fue demostrada en un estudio clínico fase 3.<sup>1-3</sup>**

**MYVITLA® + Rd fue generalmente bien tolerado, con efectos adversos manejables.<sup>1,2</sup>**

- La mayoría de los pacientes (76 %) continuaron con la dosis inicial de MYVITLA® sin reducción de la dosis<sup>1,2</sup>
- Los eventos adversos más frecuentes fueron trastornos gastrointestinales, erupción cutánea, trombocitopenia, edema periférico, neuropatía periférica y dolor de espalda. No se observaron señales de seguridad cardiovascular ni renal en el estudio<sup>1,2</sup>

Resultados del estudio pivotal fase 3 TOURMALINE MMI, un estudio clínico internacional, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, diseñado para evaluar la superioridad de MYVITLA®+len/dex sobre placebo+len/dex por vía oral una vez por semana en 722 pacientes adultos con mieloma múltiple recaído/refractario que recibieron de 1 a 3 tratamientos previos. Este fue el análisis estadístico final del criterio de valoración primario, la SLP.<sup>1,2</sup> Para obtener información adicional, consulte el Prospecto del producto.

**ABREVIATURAS:** HR = cociente de riesgo; IP = inhibidor de proteosoma; len/dex = lenalidomida/dexametasona; MM = mieloma múltiple; mSLP = mediana de la SLP; Rd = Revlimid (lenalidomida) + dexametasona; SLP = sobrevida libre de progresión.

**REFERENCIAS:** 1. N.P. Moreau P ym. N Engl J Med. 2016; 374: 1621-1634 (v0.2). 2. Myvitla®. Resumen de las características del producto. Fecha de última revisión 22-12-2020 - Disposición N°:9205/20. 3. Avet-Loiseau 2017, (v0.1).



Takeda Argentina S.A.  
Av. del Libertador 7208, Piso 14 • Ciudad de Buenos Aires, Argentina  
Línea de atención al cliente: 0800-266-5287 • www.takedaargentina.com  
C-APROM/AR/MVT/0199 Fecha de elaboración: Junio 2021



Información para  
prescribir  
disponible en el  
código QR



# Leucemias agudas pediátricas con alteraciones en el gen KMT2A: experiencia en los últimos 20 años en una institución

Acute pediatric leukemia with KMT2A GENE alterations: an institution experience in the last 20 years

Peruzzo L, Deu M, Pennella C, Sánchez La Rosa C, Alfaro E, Rubio P, Rossi J, Baialardo E, Gutter M, Felice M.

*Hospital de Pediatría S.A.M.I.C. "Prof. Dr. Juan P. Garrahan"*

luisinaperuzzo@gmail.com

Fecha recepción: 17/11/2021

Fecha aprobación: 6/12/2021

TRABAJO PRESENTADO EN SESIÓN ORAL A PREMIO DURANTE EL XXV CONGRESO ARGENTINO DE HEMATOLOGÍA.



ARTÍCULO ORIGINAL

HEMATOLOGÍA

Volumen 25 n° 3: 11-17  
Septiembre - Diciembre 2021

**Palabras claves:** leucemia aguda, pediatría, gen KMT2A.

**Keywords:** acute leukemia, pediatric, KMT2A gene.

## Introducción

La leucemia aguda (LA) es la patología oncológica más frecuente en pediatría. Las alteraciones en el gen *KMT2A* son detectadas en el 70% de los pacientes menores de 1 año con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda (LLA) y de leucemia mieloblástica aguda (LMA), en menos del 5% de niños con LLA y LMA mayores de 1 año y, aproximadamente, en la mitad de los pacientes con leucemia aguda relacionada con tratamiento oncológico previo (LART)<sup>(1)</sup>. Independientemente del subtipo, las LA con reordenamientos del gen *KMT2A* se asocian a pronóstico adverso<sup>(2)</sup>. Los objetivos del presente trabajo fueron determinar características clínicas, formas de presentación y evolución de los pacientes pediátricos

con LLA, LMA y LART con alteraciones en el gen *KMT2A*, caracterizar subtipos y frecuencia de alteraciones que involucran al gen *KMT2A* y evaluar la probabilidad de sobrevida libre de eventos (SLE) y la probabilidad de sobrevida global (SG) de este grupo de pacientes.

## Pacientes y métodos

Se trata de un estudio analítico, retrospectivo. Se analizaron los pacientes menores de 17 años con diagnóstico de LLA, LMA y LART con reordenamientos en el gen *KMT2A* diagnosticados en nuestra Institución entre enero de 2000 y julio de 2021. El compromiso del gen *KMT2A* fue evaluado con técnicas de reacción en cadena de polimerasa (PCR), bandedo-G y/o técnica de hibridación *in situ* (FISH)

previamente descriptas<sup>(3,4)</sup>. Se calcularon SG, SLE y error estándar (EE) y se compararon con log-rank test, con el *software* estadístico Graphpad Prism 5.0. Se garantizó la confidencialidad respecto a los datos personales de cada paciente (ley nacional 25.326 de *Habeas Data*), los cuales fueron registrados en la base datos de manera codificada. Este estudio se rigió por las normas de la Declaración de Helsinki, la Resolución Nacional Nro. 1480/2011 del Sistema de Evaluación, Registro y Fiscalización de las Investigaciones en Salud. Los protocolos de tratamiento administrados fueron aprobados por el Comité de Ética del Hospital de Pediatría Prof. Dr. Juan P. Garrahan.

## Resultados

En el período estudiado se diagnosticaron 1977 pacientes con LA: 75% LLA y 25% LMA. De ellos, el 9,4% presentó reordenamientos de *KMT2A*, 94 LLA y 93 LMA. Con un rango etario de 0-15 años, la mediana de edad al diagnóstico fue de 6 meses para LLA y 5 años para LMA. La distribución por sexo M/F fue 1/1,22 en LLA y 1/1,44 en LMA.

La distribución según el inmunofenotipo de los blastos fue en LLA: pro-B: 46 (49%), pre-B: 34 (36,2%), linaje ambiguo: 5,4 (5%), B-madura: 3,2 (3%), B-común: 3,2 (3%), T cortical: 2 (2%) y T citotóxica: 1 (1%).

Según la clasificación FAB, la distribución de los casos de LMA fue M5: 76 (81%), LALA (mieloide y B): 4 (4%), M1:1 (1%), M2: 4 (4%), M4: 2 (2%), M7: 1 (1%), sarcoma mieloide: 3 (3%) y 10 (11%) presentaron *switch* de linaje: 3 LMA con *switch* a LLA y 7 LLA con *switch* a LMA.

Se diagnosticaron 5 LART secundarias a: LLA (n=3), retinoblastoma (n=1) y rhabdomyosarcoma (n=1), como primera enfermedad maligna.

Se observó hepatomegalia y esplenomegalia en el 77% y 79% de los pacientes con diagnóstico de LLA y en el 60% y 45% de pacientes con LMA, respectivamente. El compromiso en piel se detectó en el 25% de los pacientes con LMA y 11% de las LLA. El SNC estaba comprometido en 15% de las LMA y 10% de las LLA y el mediastino en 10% de las LLA. Otras localizaciones comprometidas por infiltración leucémica menos frecuentes fueron riñón, páncreas y órbitas.

La mediana de recuento de leucocitos al diagnóstico fue 165.000/mm<sup>3</sup> (rango: 2.200-1.400.000) en LLA y

16.290/mm<sup>3</sup> (rango: 0,78-460.000) en LMA. Presentaron hiperleucocitosis (>100.000 leucocitos/mm<sup>3</sup>) el 55% de las LLA y el 37% de las LMA. Se detectaron alteraciones en el gen *KMT2A* por PCR en todos los casos de LLA y 80 de ellos fueron confirmados por bandedo-Gy/o por técnica de FISH (*break-apart*). En los casos de LMA, se caracterizaron por PCR en 65 pacientes y por bandedo-G exclusivamente en 27. La distribución de los reordenamientos del gen *KMT2A* en LLA fue: *KMT2A-AFF1*: 55%, *KMT2A-MLLT1*: 23,7%, *KMT2A-MLLT3*: 16%, *KMT2A-MLLT10*: 4,4%. En LMA la alteración más frecuente fue *KMT2A-MLLT3* en 40% de los casos, *KMT2A-MLLT10*: 18%, *KMT2A-MLLT11*: 8%, *KMT2A-AFF1* y *KMT2A-MLLT1*:7%. Las alteraciones menos frecuentes fueron *t(X;11)*, *KMT2A-AFDN*, *KMT2A-MLLT6*.

Todos los pacientes recibieron tratamiento con los protocolos vigentes para LLA y LMA (Interfant, LLA-96, LLA-2002, LLA-2020 y LMA-99, LMA-08). Recibieron consolidación con trasplante de células precursoras hemopoyéticas (TCPH) 13 pacientes con diagnóstico de LLA (todos en 1ª remisión completa) y 12 con LMA (10 en 1a y 2 en 2a remisión completa).

La SLE a 5 años fue 26% (EE: 11), 43% (EE: 9) (p=0.02) y la SG 31% (EE: 10) y 47% (EE: 9) para LLA y LMA respectivamente. La SLE y SG para LART fue 25%. Se evidenciaron 69 eventos en el grupo de pacientes con *KMT2A*-LLA (73% del total de las LLA). De ellos fueron: 41 recaídas de enfermedad (59%), 22 muertes en remisión completa (RC) (32%), 5 muertes en inducción (7%) y un paciente tuvo respuesta nula al tratamiento. En el grupo *KMT2A*-LMA se evidenciaron 57 eventos (61% del total de las LMA). De éstos, 27 fueron recaídas de enfermedad (47%), 20 muertes en inducción (35%), 7 muertes en RC (13%) y 3 presentaron respuesta nula al tratamiento (5%). La SLE a 5 años en los pacientes menores y mayores de 1 años fue 22% vs 50% respectivamente (p=0.0015). Independiente del tratamiento recibido, en los pacientes menores de 1 año la SLE a 5 años en LLA y LMA fue 21% y 37% y en los menores de 6 meses 17% y 33% para LLA y LMA, respectivamente.

Comparando la SLE a 5 años de los pacientes que recibieron quimioterapia vs. consolidación con TCPH para la cohorte completa fue 26% vs. 50% (p=0,09), para LLA 23% vs. 46% (p=0,10) y para LMA 45% vs. 60% (p=0,20).

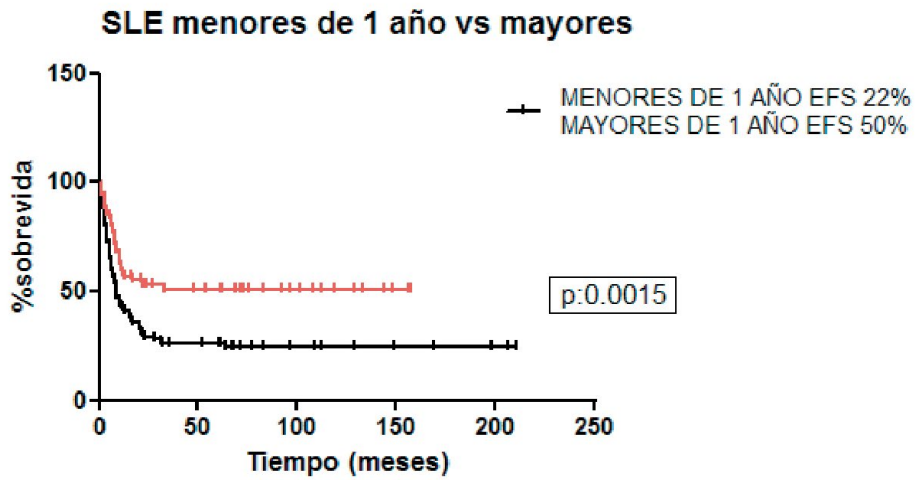


Figura 1. Sobrevida libre de eventos en menores y mayores de 1 año.

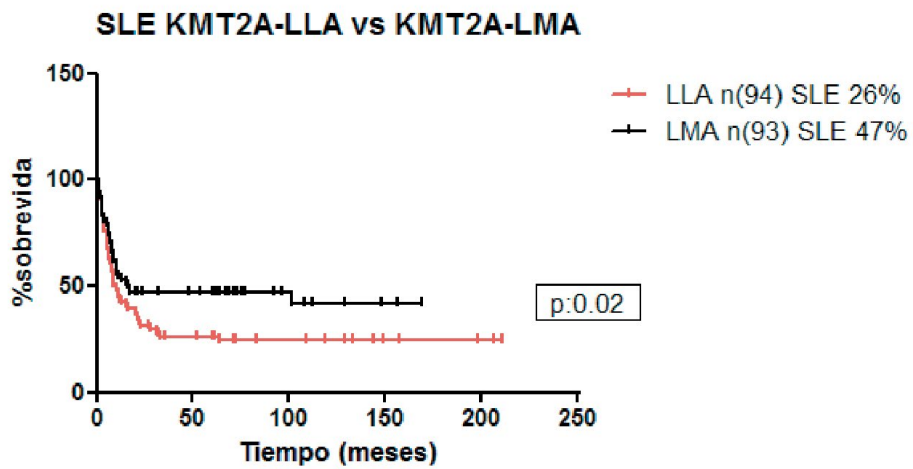


Figura 2. Sobrevida libre de eventos *KMT2A* LLA y *KMT2A* LMA

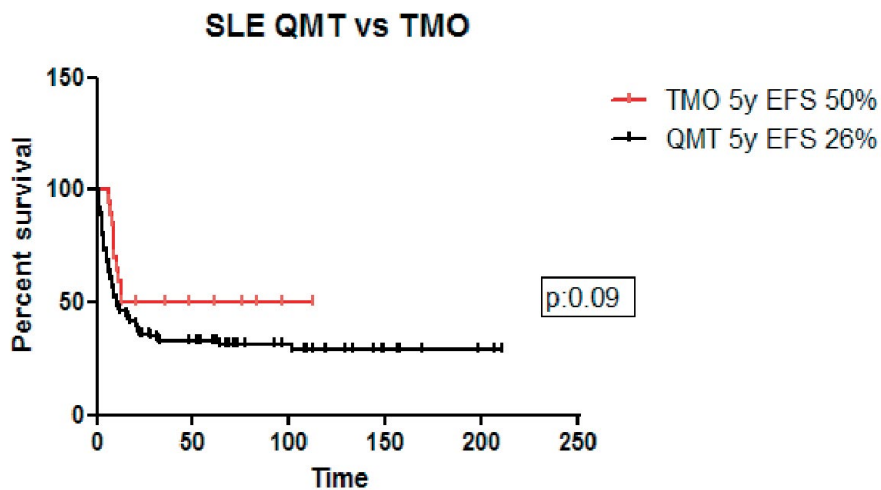
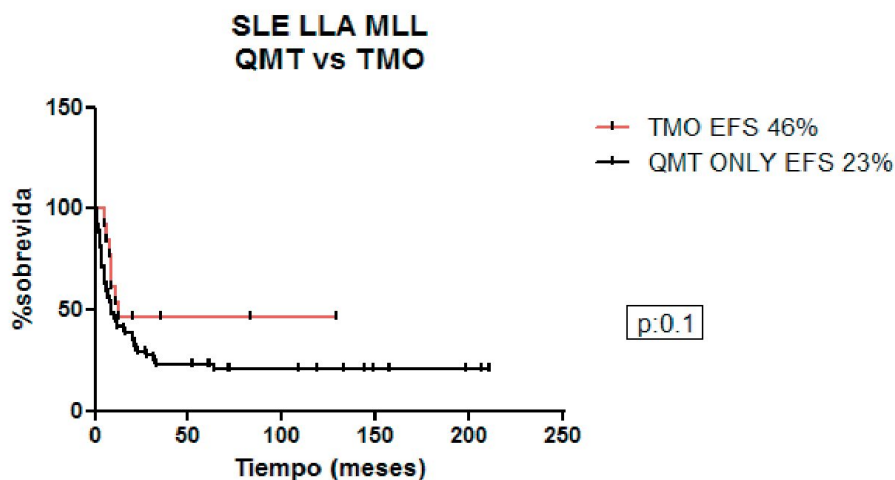
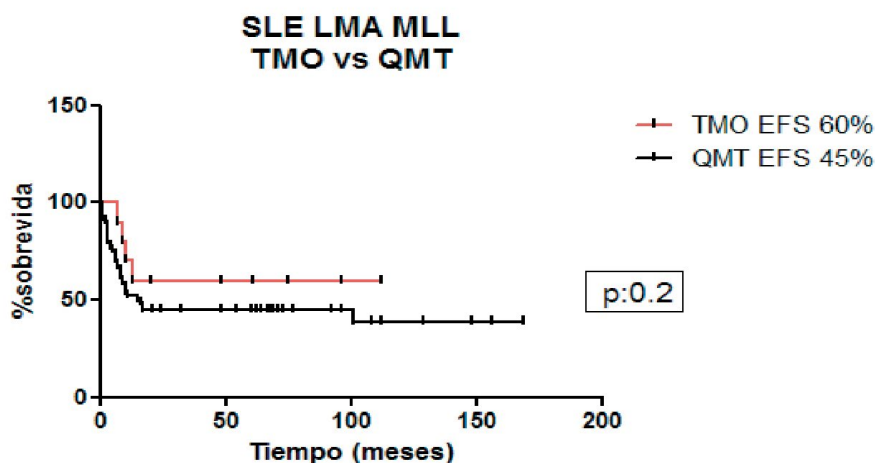


Figura 3. Sobrevida libre de eventos en pacientes con quimioterapia vs. trasplante de células precursoras hemopoyéticas



**Figura 4.** Sobrevida libre de eventos en pacientes con *KMT2A* LLA: quimioterapia vs. trasplante de células precursoras hematopoyéticas



**Figura 5.** Sobrevida libre de eventos en pacientes con *KMT2A* LMA: quimioterapia vs. trasplante de células precursoras hematopoyéticas

### Discusión

La LA representa una patología hematológica heterogénea caracterizada por la proliferación clonal de células hemopoyéticas inmaduras y constituye la patología maligna más frecuente en la infancia (37% del total de pacientes diagnosticados con cáncer infantil)<sup>(5)</sup>. Del total de los pacientes pediátricos con diagnóstico de LA, el 75% corresponde a LLA y el restante 25% a LMA.

El gen *KMT2A* (Lisina metil transferasa 2A) descrito por primera vez en 1992, se encuentra localizado en el cromosoma 11q23 y codifica una proteína expresada en una amplia variedad de tejidos humanos<sup>(6)</sup>. El complejo *KMT2A* ejerce una función epigenética crucial para el mantenimiento y desarrollo

de los precursores hematopoyéticos y su diferenciación, ya que mantiene la llamada “memoria transcripcional”, lo que garantiza la identidad a las células. Lo excepcional del gen *KMT2A* es su gran número de posibles combinaciones con otros genes descriptos. Hasta ahora se han detectado más de 200 translocaciones en pacientes con LA, lo cual explicaría la heterogeneidad en las patologías que origina<sup>(7)</sup>. Meyer y cols. estudiaron los llamados recombinomas del gen *KMT2A* y describieron que los diferentes puntos de ruptura, que ocurren en el gen al translocarse, se correlacionarían con las diversas etiologías, formas de presentación clínica y evolución. Así, describieron un punto de ruptura en el intrón 11 asociado a LLA en menores de 1 año

mientras los puntos de ruptura asociados a LMA o pacientes mayores se encontraba en el intrón 9<sup>(7)</sup>. Según lo reportado en la literatura, y en coincidencia con los resultados de nuestra cohorte, al analizar la frecuencia exacta de fusiones específicas de *KMT2A*, resulta llamativo que sólo unas pocas sean las responsables de la génesis de la mayoría de las LA. Estas fusiones son las derivadas de las translocaciones t(4;11) [*KMT2A-AFF1/AF4*], t(9;11) [*KMT2A-MLLT3/AF9*], t(10;11) [*KMT2A-MLLT10/AF10*] y t(11;19) [*KMT2A-MLLT1/ENL*] en el 92% de los pacientes con LLA, mientras que las translocaciones cromosómicas t(9;11) [*KMT2A-MLLT3/AF9*], t(10;11) [*KMT2A-MLLT10/AF10*], t(11;19) [*KMT2A-MLLT1/ENL*] y t(11;19) [*KMT2A-ELL*] son caracterizadas en el 48% de todos los pacientes con LMA<sup>(8)</sup>.

Los rearrreglos de *KMT2A* se encuentran en alrededor del 5% y 10% de los pacientes adultos y pediátricos con LA<sup>(9)</sup>, respectivamente, y en la mayoría de las LA secundarias a tratamiento oncológico previo, especialmente con inhibidores de topoisomerasa II<sup>(10)</sup> confiriéndole a la enfermedad un impacto pronóstico adverso independiente<sup>(2)</sup>.

Los fenotipos prevalentes en las LA con reordenamientos de *KMT2A* son aquéllos con características inmaduras como LLA pro-B, caracterizado por expresión de CD19, con ausencia de expresión de CD10 y frecuente co-expresión de marcadores de linaje mielóide como CD15, CD33, y CD68. Esto podría explicarse teniendo en cuenta las conclusiones de Armstrong y cols., quienes determinaron que las células con reordenamiento de *KMT2A* tienen un perfil de expresión génica coincidente con un estadio de desarrollo muy temprano de progenitores hematopoyéticos<sup>(11)</sup>.

Los pacientes con LLA y reordenamientos de *KMT2A* se presentan frecuentemente con recuentos leucocitarios elevados, compromiso extramedular (nódulos subcutáneos, hepato y esplenomegalia). Erin y cols. describieron una baja frecuencia de compromiso de SNC en *KMT2A*-LMA (representando <10%) y alta incidencia de compromiso cutáneo como la forma de presentación más prevalente [alrededor del 80% en t(10;11)]<sup>(12)</sup>. En nuestra cohorte se pudo validar la alta incidencia de hiperleucocitosis como forma de presentación más frecuente en las LLA, siendo en un menor porcentaje en las LMA y la hepato y esplenomegalia como la forma de compromi-

so extramedular más frecuente en ambas.

La edad de presentación temprana, específicamente en menores de 1 año representa el factor pronóstico adverso más importante<sup>(13)</sup>. Según lo reportado por Pui y cols., independientemente del tipo de reordenamiento de *KMT2A*, los niños menores de 1 año tienen peor resultado que los pacientes mayores. En esta cohorte, dos tercios de los pacientes mayores de 1 año se encontraban vivos y libres de enfermedad a los 5 años, en comparación con menos de un tercio de los pacientes menores de 1 año al momento del diagnóstico. Estos datos pudieron ser validados en una serie pequeña de pacientes con LLA de linaje B con la translocación t(11;19) donde alcanzaron la RC 5 de 7 niños de 1 a 9 años, pero sólo 2 de 13 menores de 1 año y 1 de 4 niños mayores de 10 años<sup>(14)</sup>. En nuestro grupo de pacientes pudo verificarse la menor probabilidad de SLE en pacientes menores de 1 año con un valor estadísticamente significativo. Diversos estudios intentaron demostrar, sin un alto grado de evidencia por el bajo número de pacientes, que intensificar el tratamiento con quimioterapia mejoraría los resultados de las LA que presentaban alteraciones en el gen *KMT2A*. En un estudio del *Dana-Farber Cancer Institute Consortium*, 3 de 7 pacientes menores de 1 año se encontraban vivos y libres de enfermedad a los 2, 4 y 6 años desde el diagnóstico, habiendo recibido intensificación con altas dosis de citarabina post RC<sup>(15)</sup>.

La indicación de TCPH en el tratamiento de LA-*KMT2A* en primera RC ha sido muy controvertida a lo largo de la historia, limitándose a las sugerencias según lo reportado por grupos colaborativos internacionales. En 2002 Pui y cols. publicaron resultados de 497 pacientes pediátricos con LLA y reordenamientos de *KMT2A*. Todos recibieron tratamiento con quimioterapia según regímenes de alto riesgo y 56 recibieron TCPH. La SG y SLE del grupo de pacientes que recibió sólo quimioterapia fue mayor que aquéllos que se sometieron un TCPH ( $p=0,014$ ) siendo la principal causa de fallo la recaída de enfermedad. El estudio tuvo como limitaciones el hecho de que los pacientes pertenecían a 12 centros, lo que determinaba la heterogeneidad de estrategias de tratamiento y que, si bien el número de pacientes fue importante, aquéllos que recibieron TCPH representaban un pequeño porcentaje<sup>(13)</sup>.

En pediatría la indicación de TCPH en primera RC continúa siendo controvertida. Según los resultados

del estudio Interfant 99, donde se evaluaron resultados de pacientes menores de 1 años con LLA y reordenamientos de *KMT2A*, no se evidenciaron beneficios con TCPH vs. tratamiento con quimioterapia, a menos que los pacientes presentaran algún factor de mal pronóstico al diagnóstico [edad menor de 6 meses, recuento de leucocitos mayor de 300.000/mm<sup>3</sup>, respuesta pobre a la prednisona o enfermedad mínima residual (EMR) detectable luego de la quimioterapia de consolidación]<sup>(16)</sup>.

La SG en pacientes pediátricos con LMA bajo los esquemas de tratamiento actuales es de alrededor del 60-70%, según lo publicado en la literatura<sup>(17)</sup>. Generalmente estos pacientes son tratados con esquemas quimioterápicos con altas dosis de citarabina y consolidación con TCPH según el grupo de riesgo, basados en características citogenético-moleculares al diagnóstico y la respuesta al tratamiento, evaluada a través del monitoreo de la EMR<sup>(18)</sup>.

En 2019 De Moerloose y cols. publicaron los resultados de un estudio multicéntrico (DB AML-01) de 112 pacientes pediátricos con diagnóstico de LMA. La supervivencia global de la cohorte fue del 74%. El 25% de los pacientes presentaba reordenamientos del gen *KMT2A* y, de ellos, el 14% presentaron una respuesta pobre a la terapia de inducción y el 10% falleció durante el primer curso de quimioterapia. Estas características establecieron que los reordenamientos de *KMT2A* eran determinantes de peor pronóstico de SG. Si bien no se vieron resultados favorables en aquellos pacientes que recibieron TCPH, concluyen, que aquéllos con pronóstico desfavorable serían candidatos para recibirlo en primera RC<sup>(19)</sup>.

Balgobind y cols., publicaron en 2009 los resultados de un grupo amplio de pacientes pediátricos con LMA y reordenamientos de *KMT2A*. Todos los pa-

cientes recibieron terapia de inducción con antraciclínicos y altas dosis de citarabina, y de los 756 pacientes totales, 108 recibieron TCPH. En el análisis de multivarianza el TCPH no demostró ser un predictor de mejor SLE y SG, otro trabajo limitado por el escaso número de pacientes que recibieron TCPH comparado con el número total de la cohorte<sup>(2)</sup>.

Según los resultados arrojados en un estudio comandado por el *Children's Oncology Group* (Trial AAML0531) en pacientes con LMA y reordenamientos de *KMT2A*<sup>(12)</sup> la presencia de t(6;11)(q27;q23), t(10;11)(p11.2;q23) y t(10;11)(p12;q23) fueron predictores independientes de inferior SG y SLE. Debido a que presentan un alto riesgo de recaída, debería considerarse el TCPH en primera RC.

En coincidencia con lo reportado en la literatura, en nuestro grupo de pacientes pudimos concluir que los pacientes con reordenamientos de *KMT2A* representan un grupo de alto riesgo, tanto en LLA como LMA, pudiendo beneficiarse con TCPH en primera RC, con el objetivo de prevenir la recaída de la enfermedad, que representa la principal causa de fallo al tratamiento y una pobre SG, más allá de las características desfavorables de presentación que contribuyen a la evolución tórpida.

### Conclusiones

Las LA con alteraciones en el gen *KMT2A* corresponden a un grupo especial con pobre pronóstico, independientemente del subtipo génico involucrado. Los pacientes menores de 1 año y, en especial, los menores de 6 meses, presentaron las tasas de supervivencia más pobres. El grupo de pacientes que recibió TCPH mostró una tendencia a presentar mejores resultados de supervivencia tanto en LLA como en LMA.

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

### Bibliografía

1. Daser A, Rabbitts TH. The versatile mixed lineage leukaemia gene MLL and its many associations in leukemogenesis. *Semin Cancer Biol.* 2005 Jun; 15(3):175-88.
2. Balgobind BV, Raimondi SC, Harbott J et al. Novel prognostic subgroups in childhood 11q23/MLL-rearranged acute myeloid leukemia: results of an international retrospective study. *Blood.* 114,2489-2496.
3. Gabert J, Beillard E, van der Velden VH et al. 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 Dec;17(12):2318-57.
4. Shaffer LG, McGowan-Jordan J, Schmid. ISCN: an International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Basel (Switzerland): S. Karger AG.
5. Moreno Florencia; Registro Oncopediátrico Hospitalario Argentino 7ma. Edición. Tendencia de Incidencia 2000-2019, Supervivencia 2005-2014.
6. Butler LH, Slany R, Cui X et al.. The HRX proto-oncogene product is widely expressed in human tissues and localizes to nuclear structures. *Blood.* 1997;89(9):3361-70.
7. Meyer C, Burmeister T, Gröger D et al. The MLL recombinome of acute leukemias in 2017. *Leukemia.* 2018 Feb;32(2):273-284.
8. Marschalek R. MLL leukemia and future treatment strategies. *Arch Pharm (Weinheim).* 2015 Apr;348(4):221-8.
9. Moorman AV, Ensor HM, Richards SM et al. Prognostic effect of chromosomal abnormalities in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: results from the UK Medical Research Council ALL97/99 randomised trial. *Lancet Oncol.* 2010;11(5):429-38.
10. Andersen MK, Christiansen DH, Jensen BA et al. Therapy-related acute lymphoblastic leukaemia with MLL rearrangements following DNA topoisomerase II inhibitors, an increasing problem: report on two new cases and review of the literature since 1992. *British Journal of Haematology.* 2001;114:539-543.
11. Armstrong SA, Staunton JE, Silverman LB et al. MLL translocations specify a distinct gene expression profile that distinguishes a unique leukemia. *Nat Genet.* 2001;30: 41-47.
12. Erin M. Guest, Betsy A. Hirsch, E. Anders Kolb et al. Prognostic Significance of 11q23/MLL Fusion Partners in Children with Acute Myeloid Leukemia (AML) - Results from the Children's Oncology Group (COG) Trial AAML0531. *Blood.* 2016;128 (22):1211.
13. Pui CH, Gaynon PS, Boyett JM et al. Outcome of treatment in childhood acute lymphoblastic leukaemia with rearrangements of the 11q23 chromosomal region. *Lancet.* 2002 Jun 1;359(9321):1909-15.
14. Rubnitz JE, Camitta BM, Mahmoud H et al. Childhood acute lymphoblastic leukemia with the MLL-ENL fusion and t(11;19)(q23;p13.3) translocation. *J Clin Oncol.* 1999; 17: 191-96.
15. Silverman LB, McLean TW, Gelber RD et al. Intensified therapy for infants with acute lymphoblastic leukemia: results from the Dana- Farber Cancer Institute Consortium. *Cancer.* 1997;80:2285-95.
16. Mann G, Attarbaschi A, Schrappe M et al. Improved outcome with hematopoietic stem cell transplantation in a poor prognostic subgroup of infants with mixed-lineage leukemia (MLL)-rearranged acute lymphoblastic leukemia: results from the Interfant-99 Study. *Blood.* 2010;116(15):2644-50.
17. Abrahamsson J, Forestier E, Heldrup J et al. Response-guided induction therapy in pediatric acute myeloid leukemia with excellent remission rate. *JCO.* 2011;29:310-315.
18. von Neuhoff C, Reinhardt D, Sander A et al. Prognostic impact of specific chromosomal aberrations in a large group of pediatric patients with acute myeloid leukemia treated uniformly according to trial AMLB-FM 98. *JCO.* 2010;28:2682-2689
19. De Moerloose, B, Reedijk, A, de Bock, GH et al. Response-guided chemotherapy for pediatric acute myeloid leukemia without hematopoietic stem cell transplantation in first complete remission: Results from protocol DB AML-01. *Pediatr Blood Cancer.* 2019; 66:e2760.



**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.

# Eficacia de la inmunización contra SARS-COV2 en pacientes con hemopatías primarias

## Effectiveness of immunization against SARS-COV2 in patients with primary hemopathies

De Luca T<sup>1</sup>, Otermin F<sup>1</sup>, Szelagowski M<sup>1</sup>, Vernengo J<sup>2</sup>, Curciarello R<sup>2</sup>, Rizzo G<sup>2</sup>, Tau L<sup>2</sup>, Delaplace L<sup>2</sup>, Rumbo M<sup>2</sup>, Docena G<sup>2</sup>, Milone J<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Hospital Italiano La Plata

<sup>2</sup> Instituto de Estudios Inmunológicos y Fisiopatológicos, Universidad Nacional de La Plata, CONICET-CIC.

tdeluca@italianolaplata.org.ar

Fecha recepción: 13/11/2021

Fecha aprobación: 15/12/2021



ARTÍCULO ORIGINAL

HEMATOLOGÍA

Volumen 25 n° 3: 18-25

Septiembre - Diciembre 2021

TRABAJO PRESENTADO EN SESIÓN ORAL DURANTE EL XXV CONGRESO ARGENTINO DE HEMATOLOGÍA.

**Palabras claves:** COVID19, hemopatías, vacunación.

**Keywords:** COVID19, hematological diseases, vaccination.

### Resumen

Los pacientes (pac) oncohematológicos o con hemopatías primarias presentan un riesgo mayor de desarrollar formas graves de COVID-19 y su evolución es desfavorable.

Los cuidados generales y la inmunización con vacunas es la forma actual de protección para estos pacientes.

Se analizó la presencia de anticuerpos IgG post vacunación en 73 pacientes adultos oncohematológicos o con hemopatías inmunes atendidos en un hospital regional de Argentina. Los pacientes fueron inmunizados con la vacuna Sputnik V, AstraZeneca o Sinopharm. El 69% fue evaluado luego de una dosis y el resto después de dos.

Observamos que el 65% de los pacientes logró seroconversión IgG. En el análisis de las variables que influyeron en la seroconversión y que lograron niveles >65% fueron: edad <60 años: 67%; sin tratamiento de quimioterapia al momento del análisis: 69%;

remisión completa de la enfermedad: 67%; 2 dosis: 68% y antecedente de haber padecido COVID-19 previo a la vacunación: 83%. Sin embargo, ninguna de las variables presentó diferencia estadísticamente significativa en un análisis univariable.

La vacunación anti SARS-Cov2 en estos pacientes mostró una tendencia importante a la seroconversión, siendo el principal factor haber tenido COVID-19 previo a la vacunación.

### Abstract

Patients with oncohematological or primary hematological diseases have a higher risk of developing severe forms of COVID-19 and their evolution is unfavorable.

General care and immunization with vaccines is the current form of protection for these patients.

The presence of post-vaccination IgG antibodies was analyzed in 73 oncohematological adult patients or with immune diseases treated at a regional

hospital in Argentina. The patients were immunized with the Sputnik V, AstraZeneca or Sinopharm vaccine. 69% were evaluated after one dose and the rest after two.

We observed that 65% of the patients achieved IgG seroconversion. In the analysis of the variables that influenced seroconversion with achieved levels >65% were: age <60 years: 67%; no chemotherapy treatment at the time of analysis: 69%; complete remission of the disease: 67%; two doses: 68% and history of COVID-19 infection prior to vaccination: 83%. However, none of these variables showed a statistically significant difference in a univariate analysis.

The anti-SARS-Cov2 vaccination in these patients showed a significant tendency to seroconversion, the main factor being COVID-19 infection prior to vaccination.

## Introducción

Desde el inicio de la pandemia se puso énfasis en las particularidades que presentaban los pacientes hematológicos en este contexto<sup>(1)</sup>. Los primeros reportes mostraron que la mortalidad era mayor que la población general<sup>(2)</sup>.

A más de un año de iniciada la pandemia por COVID-19 es sabido que la inmunidad mediada por anticuerpos es central en la protección frente a la infección por SARS-CoV2. A partir de marzo del 2020 se determinó que la infección genera anticuerpos neutralizantes, de la misma manera que las infecciones agudas respiratorias virales y por otras variedades de coronavirus<sup>(3)</sup>. Estos anticuerpos generan protección<sup>(4)</sup> y el virus es sensible a su presencia<sup>(5)</sup>. Y tanto la entrada a la célula blanco que expresa ACE2, como la replicación viral son interferidas por la acción de anticuerpos específicos anti-proteína *spike* (-S), o más específicamente anti-proteína RBD o anticuerpos neutralizantes<sup>(6)</sup>.

Los anticuerpos aparecen luego de 7-10 días de la exposición al virus y el porcentaje de seroconversión es variable, aunque se incrementa a medida que transcurren las semanas. Luego de las 3 semanas de instaurados los síntomas, el 90% aproximadamente de los infectados hacen seroconversión<sup>(7)</sup> y en general se observa mayor título de anticuerpos con la severidad de la infección por COVID-19<sup>(8)</sup>. A pesar de que los niveles de anticuerpos dependen de cada individuo y se observan niveles muy variables,

inclusive de anticuerpos neutralizantes, la mayor parte de los individuos convalecientes tienen una inmunidad protectora limitada en el tiempo, dado que los niveles de anticuerpos descienden paulatinamente<sup>(9)</sup>. Se ha reportado que hasta 8 meses luego de la enfermedad es posible detectar anticuerpos en circulación<sup>(10)</sup>.

El monitoreo del nivel de anticuerpos en el tiempo puede ser útil para estrategias futuras de inmunización y resulta una herramienta para la identificación de posibles donantes de plasma para uso terapéutico, uno de los primeros tratamientos utilizados<sup>(11)</sup>. Con respecto a las vacunas anti SARS-Cov2, en todas ellas el objetivo es generar anticuerpos neutralizantes, aunque no es el único mecanismo efector, dado que también deben inducir linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+ y linfocitos B y T de memoria<sup>(12)</sup>. Por lo tanto, una manera de evaluar la inmunogenicidad conferida por las vacunas, tanto en ensayos pre-clínicos como clínicos, es a través de la aplicación de métodos serológicos que evalúen la presencia de anticuerpos específicos. Sin embargo, es importante considerar que la inmunidad mediada por anticuerpos no es el único mecanismo efector inmune protector inducido por las vacunas. La inmunidad celular es esencial para el control de una infección viral y se ha observado que enfermedades severas cursan con linfopenia y recuentos bajos de linfocitos T circulantes<sup>(13)</sup>.

Contar con métodos serológicos para evaluar la presencia de anticuerpos específicos se instaló tempranamente como una necesidad contra la pandemia. A partir de marzo de 2020 ya existían test serológicos comerciales disponibles, y éstos permitían evaluar la presencia en sangre de IgG o IgM anti-proteína -S, -RBD (o neutralizantes)<sup>(14)</sup>. Los ensayos para determinar la funcionalidad de los anticuerpos anti-S o anticuerpos neutralizantes tienen otras características y requieren de condiciones experimentales más sofisticadas, lo cual determina que no puedan ser aplicados en forma masiva<sup>(15)</sup>.

Ante la disponibilidad de vacunas en el país a partir de diciembre de 2020, se insistió para que los pacientes con hemopatías sean declarados prioritarios en su administración. En la resolución ministerial del 12 de febrero del 2021 se incluyó a estos pacientes en la lista de prioridad. Considerando que tanto las vacunas de ARN, como vectores virales no replicativos, no tienen riesgo de contagiosidad en

inmunodeprimidos, no se esperaban efectos colaterales diferentes a la de la población general, pero poco se conocía sobre la efectividad de las mismas. Los primeros reportes de seroconversión en pacientes con leucemia linfática crónica y mieloma múltiple que recibieron vacunas a ARN indicaron una menor tasa de efectividad que en la población general<sup>(16-17)</sup>.

Sin embargo, no existen reportes de efectividad con varias de las vacunas que se están aplicando en nuestro país, por lo que resulta importante evaluar la inmunogenicidad de las vacunas en una población de pacientes con hemopatías primarias asistidas en nuestro hospital.

### Materiales y métodos

Se trata de un estudio prospectivo realizado sobre pacientes vacunados que se asisten en el Hospital Italiano La Plata (HILP). Las muestras fueron enviadas para la detección de anticuerpos neutralizantes al Laboratorio de Salud Pública de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP) y al Instituto de Estudios Inmunológicos y Fisiopatológicos (IIFP) de la UNLP y CONICET. El

protocolo de estudio fue evaluado y aprobado por el Comité de Ética del HILP. Los pacientes incluidos en la investigación firmaron un consentimiento informado y las muestras fueron codificadas para su identificación.

Se analizaron muestras de 73 pacientes con patologías hematológicas que concurren a la consulta consecutivamente entre abril y julio de 2021. Las características de los pacientes figuran en la tabla 1. Todos son adultos con una edad media de 60 años y un rango entre 30 a 84. 30 mujeres y 43 hombres. Se seleccionaron pacientes con diagnóstico de certeza de hemopatía primaria: 70 con enfermedades oncohematológicas (se utilizaron los criterios de OMS 2016)<sup>(18)</sup> y 3 con enfermedades inmunes (anemia aplásica y trombocitopenia inmune). El 16 % de los pacientes evaluados había tenido COVID-19, diagnosticado por RT-PCR en muestras de hisopado nasofaríngeo.

Los criterios de vacunación aplicados fueron los vigentes por la autoridad sanitaria. Los pacientes recibieron las vacunas Sputnik V, AstraZeneca/Oxford o Sinopharm. Se trata de dos vacunas a vectores virales no replicativos (Sputnik V y AstraZeneca/

**Tabla 1.** Características de los pacientes

<b>Características</b>	
Total n (%)	73 (100)
Edad media (rango)	60 (30-84)
<b>Sexo</b>	
Femenino	30 (41)
Masculino	43 (59)
<b>Patología</b>	
Patología inmune	3 (4)
Leucemia linfática crónica	7 (9)
Neoplasias mieloproliferativas crónicas	14 (19)
Sme mielodisplásicos	2 (3)
Linfomas no Hodgkin	21 (29)
Linfoma Hodgkin	5 (7)
Leucemias agudas	7 (10)
Discrasias de células plasmáticas	14 (19)
<b>Tratamiento</b>	
Sin tratamiento	32 (44)
Terapia blanco	32 (44)
Quimioterapia Intensiva	9 (12)

Oxford) y una vacuna a virus completo inactivado (Sinopharm).

Se obtuvieron muestras de sangre y los análisis serológicos se realizaron a partir de los 21 días de la primera dosis y luego de 14 días de la segunda, en los casos que la hubieran recibido.

Se compararon los resultados de serología analizando distintas variables de la enfermedad y los tratamientos recibidos. Y se confrontaron con lo publicado en los estudios pivotaes de las vacunas utilizadas<sup>(19-24)</sup>.

Le detección de los anticuerpos IgG anti-proteína -S y -RBD (o neutralizantes) se realizó por método de ELISA indirecto usando el kit COVIDAR cualitativo. Dicho kit fue elaborado y distribuido por el MINCYT y el CONICET para la utilización gratuita en centros de salud tanto públicos como privados de Argentina<sup>(25)</sup>.

Se utilizaron placas de microelisa recubiertas con trómeros de proteína S y RBD, que fueron bloqueadas e incubadas sucesivamente con 200 µL de una dilución 1:50 de plasma o suero durante 60 min a 37°C, y 100 µL de anticuerpos secundario (anti-IgG humana en ratón conjugada a peroxidasa de rábano) durante 30 min a 37°C. Finalmente el desarrollo de color se realizó por agregado de una solución de TMB durante 30 min a 37°C y la reacción enzimática se detuvo con ácido sulfúrico 1M. La lectura de densidad óptica (DO) se realizó a 450 nm y se empleó un lector de microplacas de ELISA BIORAD. Se emplearon los controles que contiene el kit y se realizaron los cálculos del valor de corte según las indicaciones del fabricante. Finalmente el índice de

positividad (IP) se calculó como la relación  $DO_{muestra} / \text{valor de corte}$ , considerándose positivo un valor >1. Previamente el kit fue evaluado empleando un panel de sueros negativos pre-pandémicos y sueros provenientes de pacientes infectados con COVID-19 de diferente severidad disponibles en nuestro laboratorio.

Los pacientes se dividieron en dos grupos, los que lograron seroconversión por IgG y los que no lo lograron, y se realizó un análisis estadístico univariado, con el programa Med-Calc v19, comparando ambos grupos. Dependiendo el tipo de variable se usó test de Chi-Cuadrado para variables cualitativas y test de Mann Whitney para variables cuantitativas.

**Resultados**

En el trabajo se incluyeron pacientes con hemopatías primarias como se indica en la figura 1: 29% linfomas no Hodgkin (21 pac), 19% síndromes mieloproliferativos crónicos (14 pac), 19% discrasias de células plasmáticas (14 pac), 10% leucemias agudas (7 pac), 9% leucemia linfática crónica (7 pac), 3% síndrome mielodisplásico (2 pac), 7% linfomas Hodgkin (5 pac), 4% enfermedades inmunes (3 pac).

Con respecto a los tratamientos que recibían, estaban sin tratamiento 32 pacientes (44%), recibían tratamiento con drogas blanco 32 pacientes (44%) y eran sometidos a quimioterapia 9 pacientes (12%). Dentro de las terapias blanco, habían recibido tratamiento con anticuerpos monoclonales anti-CD20 en el último año, 8 pacientes (11%). El detalle de los tratamientos se muestra en la tabla 2.

**Figura 1.** Frecuencia de patologías

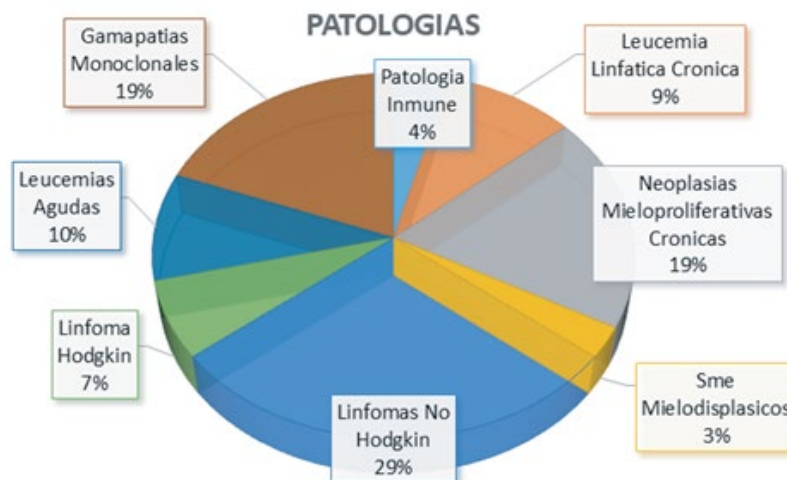


Tabla 2. Lista de tratamientos

Terapias blanco (drogas utilizadas)	n (%)	Quimioterapia intensiva (esquemas utilizados)	n (%)
Inhibidor de proteosoma	6 (19)	R-CHOP	2 (22)
Inmunomoduladores	5 (16)	R-ESHAP	3 (34)
Hipometilantes	3 (10)	R-bendamustine	1 (11)
Anticuerpo anti-CD20	2 (6)	Gemcitabine	2 (22)
Inhibidores de tirosin kinasa	3 (10)	Otros	1 (11)
Antimetabolitos	7 (21)		
Anticuerpo anti-CD30	2 (6)		
Inmunoglobulina anti-timocito	1 (3)		
Agonistas de TPO	1 (3)		
Eritropoyetina	1 (3)		
Trióxido de arsénico	1 (3)		

Habían recibido un trasplante autólogo de médula ósea (TAMO) 6 pacientes (8%).

Según el estado al momento de la evaluación, se encontraban en remisión completa de la enfermedad el 61% y presentaba algún signo de la misma (remisión parcial, enfermedad estable o progresión) el 39%.

En el caso de los pacientes en remisión completa, ésta llevaba una duración mayor a un año en el 41% de los casos. El 69% de los pacientes había recibido una sola línea terapéutica.

Con respecto a la vacunación para COVID-19, 64 pacientes (87%) fueron vacunados con vacunas de vector viral no replicativo (Sputnik V o AstraZeneca/Oxford) y con virus inactivados (Sinopharm) 9 pacientes (13%). Se les había suministrado una sola dosis al 69% y 2 dosis al 39%.

El tiempo entre el diagnóstico de la hemopatía y el momento de la vacunación fue de 40 meses (mediana), con un rango de 1 a 351, mientras que el tiempo entre la vacunación y la determinación de anticuerpos fue de 51,4 días (mediana) con un rango de 21 a 144.

La seroconversión IgG global fue del 65% (IC95%: 52,9-75,8). Se analizaron, además, diferentes variables (Tabla 3): en cuanto a la edad de los pacientes, en los <60 años se observó que el 67% lograron seroconversión contra 61% en >60 años (P=0.7). En hombres la positividad fue de 67% vs 60% en mujeres (P=0.7). Con respecto al tratamiento, la seroconversión se presentó en el 69% de los pacientes fuera de terapia, en el 62% de los que reciban drogas con blanco y 55% en los que estaban bajo quimioterapia

al momento de recibir la vacuna (P=0.7). De acuerdo al estado de la enfermedad, los que estaban en remisión completa se detectó presencia de anticuerpos en el 67% vs 60% en los que presentaba signos de enfermedad (P=0.7). Los 6 pacientes que habían recibido un TAMO fueron positivos para anticuerpos. Los pacientes que dentro de su terapia habían recibido anticuerpos anti CD20 en el último año presentaron seroconversión en 50% de los casos.

Considerando la seroconversión post-primera dosis o post-esquema completo de vacunación (2 dosis), los resultados mostraron un 62% de positividad para el primer grupo y 68% para el segundo (P=0.8).

También analizamos la seroconversión de acuerdo al tipo de vacuna recibida. De los pacientes que recibieron vacunas con vector viral no replicativo (64 pac), el 64% consiguió desarrollar anticuerpos vs 66% en los que recibieron vacunas con virus inactivado (9 pac) (P=0.8).

Finalmente, los pacientes que habían sufrido COVID-19 previo a la vacunación presentaron anticuerpos en el 83% de los casos (P=0.2).

## Discusión

Desde el inicio de la pandemia se consideró a los pacientes inmunodeprimidos con mayor susceptibilidad de contraer el virus y severidad en su presentación. Las medidas de cuidado general son transitorias y sólo afectan la transmisión viral, mientras que la inmunidad conferida por las vacunas previene la enfermedad sintomática, severa e inclusive la

**Tabla 3.** Resultados, comparación entre grupo IgG positivos vs IgG negativos

	IgG positivos	IgG negativos	p
Total n (%)	47 (65)	26 (35)	
Edad media -rango	60 [32-84]	60 [30-84]	0,7136
>60 años	24 (61)	15 (49)	0,7652
<60 años	23 (67)	11 (23)	
<b>Sexo</b>			
Femenino	18 (60)	12 (30)	0,6856
Masculino	29 (67)	14 (27)	
<b>Tratamiento</b>			
Sin tratamiento	22 (69)	10 (31)	0,7329
Terapia blanco	20 (62)	12 (38)	
Quimioterapia	5 (55)	4 (45)	
<b>Status actual</b>			
Remisión completa	30 (67)	15 (33)	0,7909
Remisión parcial	17 (60)	11 (40)	
TAMO <1 año	6 (100)	0 (0)	0,6908
Anticuerpo anti-CD20 <1 año	4 (50)	4 (50)	0,6107
Remisión completa >1 año	18 (60)	12 (40)	0,6856
<b>Líneas de tratamiento</b>			
0-1	30 (59)	21 (41)	0,2135
más de 2	17 (74)	5 (26)	
<b>Vacuna - plataforma</b>			
Vector viral no replicativo	41 (64)	23 (36)	0,8267
Virus inactivado	6 (66)	3 (34)	
<b>Nº dosis</b>			
1	32 (62)	19 (38)	0,8581
2	15 (68)	7 (32)	
Tiempo e/ diagnóstico de enf. hematológica y vacunación (meses), media [rango]	48 [1-179]	69 [2-351]	0,3406
Tiempo entre 1ª dosis y medición serológica (días), media [rango]	53,7 [21-144]	52,2 [21-111]	0,518
Antecedente de COVID19	10 (83)	2 (17)	0,2421

muerte, y esta protección se mantiene por un tiempo que actualmente desconocemos con exactitud. La inmunidad conferida por las vacunas evita la re-infección sintomática y es necesaria para que estos pacientes puedan continuar con sus tratamientos y reinsertarse en una vida normal. Sin embargo, no se tiene certeza sobre el impacto de la vacunación en

pacientes con desórdenes hematológicos o inmunológicos, dado que su enfermedad de base y las terapias recibidas producen inmunodepresión severa. También es cierto que en los trabajos publicados de fase 3 de las vacunas, los voluntarios son individuos que, dentro de sus comorbilidades, no presentaban hemopatías o estados de inmunosupresión.

En la publicación de Logunov y col.<sup>(20)</sup>, sobre el desarrollo fase 3 de la vacuna Sputnik V (Gam-COVID-Vac), el porcentaje de aparición de anticuerpos IgG anti-RBD en los 14964 voluntarios vacunados, fue del 98%. Voysey M y col.<sup>(21)</sup> que publican la efectividad de la vacuna AstraZeneca (AZD1222) y sus estudios de fase 2, demuestran una capacidad de generar anticuerpos del 91%<sup>(22)</sup> y posteriormente en el estudio fase 3 se demostrará su eficacia. La publicación de Shengli X y col.<sup>(23)</sup>, de la vacuna Sinopharm (BBIBP-CorV) mostró un porcentaje de seroconversión del 95% luego de la 6 semana de la aplicación. Inclusive en nuestro país, en personal de salud que fue vacunado con Sputnik V, observamos una tasa de seroconversión del 94% luego de la primera dosis y 100% luego de la segunda, a los 21 días de aplicada cada una de ellas<sup>(26)</sup>. Estas mismas vacunas probablemente tendrían un menor porcentaje de positividad en pacientes con hemopatías.

Existen trabajos que caracterizan la respuesta inmune post-vacunación en pacientes con desórdenes oncohematológicos. Herishanu y col.<sup>(19)</sup> describieron en Israel el efecto de BNT162b2 sobre pacientes con leucemia linfática crónica y observaron que la respuesta se encuentra marcadamente comprometida en comparación con población sana. Asimismo, esta respuesta se ve afectada por enfermedad activa y el tratamiento al momento de la vacunación. Observaron en 167 pacientes que, a 21 días de la segunda dosis de esta vacuna a ARNm, la tasa de seroconversión fue del 39.5%, mientras que este valor descendió al 16% cuando fueron vacunados durante

el tratamiento. Observaron que ningún paciente con terapia anti-CD20 respondió a la vacunación.

La falta de una respuesta inmune óptima frente a las vacunas lleva a considerar la posibilidad de evaluar una estrategia distinta de vacunación mediante la aplicación de una tercera dosis de refuerzo antes del año de iniciada la vacunación, o inclusive de asegurar la vacunación de su entorno más cercano y extremar las medidas de protección personal.

La situación de inmunizar adecuadamente a los pacientes oncohematológicos es un tema abierto. De acuerdo a nuestra experiencia en 73 pacientes la positividad fue menor que en la población general (65%). Las variables que consiguieron un porcentaje mayor fueron: edad <60 años: 67%; sin tratamiento activo en el momento de la vacunación: 69%; remisión completa de su enfermedad: 67%; esquema de vacunación completo: 68% y antecedente de enfermedad COVID19: 83%. Estos hallazgos, si bien no muestran una significancia estadística, reflejan una tendencia numérica.

Es cierto que la mayoría de los pacientes había recibido una dosis, de acuerdo a la política sanitaria instrumentada en nuestro país. Pero cuando se analiza a los pacientes que recibieron 2 dosis no existe una diferencia estadísticamente significativa en el aumento de la aparición de anticuerpos.

Un análisis con mayor número de pacientes con hemopatías es necesario para una conclusión, pero el reporte puede resultar útil para una conducta de manejo y establecer pautas de control y cuidado particular.

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

### Bibliografía

- Gavillet M, Carr Klappert J, Spertini O et al. Acute leukemia in the time of COVID-19. *Leuk Res.* 2020 Mar 26;92:106353.
- He W, Chen L, Chen L et al. COVID-19 in persons with haematological cancers. *Leukemia.* 2020 Jun;34(6):1637-1645.
- Zhou P, Yang XL, Wang XG et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature.* 2020;579:270-273.
- Liu STH, Lin HM, Baine I et al. Convalescent plasma treatment of severe COVID-19: a propensity score-matched control study. *Nat. Med.* 2020;26:1708-1713.
- Okba NMA et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2-specific antibody responses in coronavirus disease patients. *Emerg Infect Dis.* 2020;26:1478-1488.
- Khoury DS, Cromer D, Reynaldi A et al. Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nat Med.* 2021;27:1205-1211.
- Wajnberg A, Mansour M, Leven E et al. Humoral immune response and prolonged PCR positivity in a cohort of 1343 SARS-CoV 2 patients in the New York City region. medRxiv 2020.04.30.20085613.

8. Wu J, Liang B, Chen C et al. SARS-CoV-2 infection induces sustained humoral immune responses in convalescent patients following symptomatic COVID-19. *Nat Commun.* 2021;12:1813.
9. Hartley GE, Edwards ESJ, Aui PM et al. Rapid generation of durable B cell memory to SARS-CoV-2 spike and nucleocapsid proteins in COVID-19 and convalescence. *Sci Immunol.* 2020 Dec 22;5(54):eabf8891.
10. Dan JM, Mateus J, Kato Y et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science.* 2021 Feb 5;371:6529.
11. Chenguang S, Zhaoqin W, Fang Z et al. Treatment of 5 critically ill patients with COVID-19 with convalescent plasma. *JAMA.* 2020;323:1582-1589.
12. John RT, Donna LF et al. COVID-19 vaccines: modes of immune activation and future challenges. *Nat Rev Immunol.* 2021 Apr;21(4):195-197.
13. Mathew D, Giles JR, Baxter AE et al. Deep immune profiling of COVID-19 patients reveals distinct immunotypes with therapeutic implications. *Science.* 2020 Sep 4;369(6508):eabc8511.
14. Stadlbauer D, Amanat F, Chromikova V et al. SARS-CoV-2 seroconversion in humans: a detailed protocol for a serological assay, antigen production, and test setup. *Curr Protoc Microbiol.* 2020;57,e100.
15. Von Rhein C, Scholz T, Henss L et al. Comparison of potency assays to assess SARS-CoV-2 neutralizing antibody capacity in COVID-19 convalescent plasma. *J Virol Methods.* 2021 Feb;288:114031.
16. Herzog Tzarfati K, Gutwein O, Apel A et al. BNT162b2 COVID-19 vaccine is significantly less effective in patients with hematologic malignancies. *Am J Hematol.* 2021 Oct 1;96(10):1195-1203.
17. Pimpinelli F, Marchesi F, Piaggio G et al. Fifth-week immunogenicity and safety of anti-SARS-CoV-2 BNT162b2 vaccine in patients with multiple myeloma and myeloproliferative malignancies on active treatment: preliminary data from a single institution. *Journal of Hematology & Oncology.* 2021;14(1):81.
18. Daniel A, 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.
19. Herishanu Y, Avivi I, Aharon A et al. Efficacy of the BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine in Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia. *Blood.* 2021;137(23):3165-3173.
20. Logunov DY, Dolzhikova IV et al. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. *Lancet.* 2021;397:671-81.
21. Voysey M, Costa Clemens S A et al. Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine. (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomized controlled trials in Brazil, South Africa and the UK. *Lancet.* 2021;397:99-111.
22. Folegatti PM, Ewer KJ, Aley PK et al. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomized controlled trial. *Lancet.* 2020 Aug 15;396(10249):467-478.
23. Shengli X, Yuntao Z, Yanxia W et al. Safety and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine, BBIBP-CorV: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 trial. *Lancet Infect Dis.* 2021 Jan;21(1):39-51.
24. Jeewandara C, Aberathna I S, Pushpakumara P D et al. Antibody and T cell responses to Sinopharm/BBIBP-CorV in naïve and previously infected individuals in Sri Lanka. *medRxiv* 2021.07.15.21260621.
25. Ojeda DS, González López Ledesma MM, Pallarés HM et al. Emergency response for evaluating SARS-CoV-2 immune status, seroprevalence and convalescent plasma in Argentina. *PLoS Pathog.* 2021 Jan 14;17(1):e1009161.
26. Rossi AH, Ojeda DS, Varese A et al. Sputnik V vaccine elicits seroconversion and neutralizing capacity to SARS-CoV-2 after a single dose. *Cell Reports Medicine.* 2021 Aug 17;2(8):100359.



**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 alogénico versus quimioterapia como terapia de postremisión en pacientes adultos de riesgo intermedio y desfavorable con leucemia mieloblástica aguda.

Allogenic transplantation versus chemotherapy as postremission therapy in intermediate and unfavorable risk adult patients with acute myeloid leukemia.

Dick, H.

Hospital Italiano La Plata - GALA (Grupo Argentino de Leucemias Agudas)

hernandick\_29@yahoo.com.ar

Fecha recepción: 10/12/2021

Fecha aprobación: 13/12/2021

TRABAJO PRESENTADO EN SESION ORAL A PREMIO DURANTE EL XXV CONGRESO ARGENTINO DE HEMATOLOGÍA



ARTÍCULO ORIGINAL

HEMATOLOGÍA

Volumen 25 n° 3: 26-33

Septiembre - Diciembre 2021

**Palabras claves:** leucemia mieloblástica aguda, quimioterapia, trasplante, consolidación.

**Keywords:** acute myeloid leukemia, chemotherapy, transplantation, consolidation.

## Resumen

Comparamos retrospectivamente el trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas (alo-TCPH) con la quimioterapia como terapia de postremisión en pacientes adultos con leucemia mieloblástica aguda (LMA) de riesgo intermedio o desfavorable. Identificamos una cohorte de pacientes de 16 a 65 años diagnosticados entre 2014 y 2020 en 19 centros argentinos. Comparamos la supervivencia libre de recaída (SLR), la supervivencia global (SG) y la incidencia acumulada de recaída (ICR) a los 3 años en pacientes con LMA en primera RC tratados con alo-TCPH vs quimioterapia como estrategia de postremisión y por subgrupos: pacientes mayores o menores de 50 años y por grupo de riesgo citogenético. En total, 306 pacientes lograron respuesta completa (RC). De éstos, 118 pacientes (39%) consolidaron con TCPH. En toda la cohorte de pacientes, el alo-TCPH demostró superioridad en

términos de SLR (HR ajustada: todos los pacientes, 0,49 (IC del 95%, 0,32 a 0,75) y SG (HR ajustada: todos los pacientes, 0,53 (95 % IC, .35-.85)); así como una menor ICR (HR ajustada: todos los pacientes, .26 (95% IC, .15-.47)) versus la consolidación con quimioterapia. Las diferencias fueron significativas en el análisis multivariado para SG, SLR y ICR en pacientes menores de 50 años y riesgo citogenético intermedio. En pacientes mayores de 50 años hay una tendencia no significativa a favor del trasplante, mientras que en pacientes con riesgo desfavorable se encuentran diferencias significativas a favor del trasplante en el análisis univariado.

## Abstract

We retrospectively compared allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) with chemotherapy as a post-remission therapy of adult patients with intermediate or poor risk acute

myeloid leukemia (AML). We identified a cohort of patients aged 16 to 65 years diagnosed between 2014 and 2020 in 19 Argentinian centers. We compared relapse-free survival (RFS), overall survival (OS) and the cumulative incidence of relapse (CIR) at 3 years, in patients with AML in first CR treated with allo-HSCT vs chemotherapy as post-remission strategy and by subgroups: patients older or younger than 50 years and cytogenetic risk group. Overall, 306 patients achieved a CR1. Of these, 118 patients (39%) underwent HSCT. In the entire patient cohort, allo-HSCT demonstrated superiority in terms of relapse free survival (adjusted HR: all patients, .49 (95% CI, .32-.75) and overall survival (adjusted HR: all patients, .53 (95% CI, .35-.85)); as well as a lower incidence of relapse (adjusted HR: all patients, .26 (95% CI, .15-.47)) versus consolidation with chemotherapy. The differences were significant in the multivariate analysis for OS, RFS and CIR in patients under 50 years of age and intermediate cytogenetic risk. In patients older than 50 years there is a non-significant trend in favor of transplantation, while in patients with poor risk, significant differences were found in favor of transplantation in the univariate analysis.

### Introducción

El trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas (alo-TCPH) constituye la mejor estrategia terapéutica posterior a la obtención de la primera respuesta completa (RC) en pacientes con diagnóstico de leucemia mieloblástica aguda (LMA) <sup>(1)</sup>. Su capacidad de reducir el riesgo de recaída se fundamenta en la actividad de la quimioterapia utilizada en el esquema de acondicionamiento, así como en el efecto injerto vs leucemia. El aumento en la mortalidad relacionada al procedimiento debe ser considerado en relación a los resultados obtenidos con quimioterapia (QMT) como estrategia de consolidación <sup>(2)</sup>.

Los pacientes de riesgo favorable (ELN2017) no se benefician del alo-TCPH en primer RC por el riesgo bajo de recaída comparado con el riesgo de mortalidad asociado al procedimiento <sup>(3)</sup>, excepto en caso de enfermedad residual medible positiva (ERM+) post 2 ciclos de inducción. Los pacientes con riesgo desfavorable (ELN2017) tienen alto riesgo de recaída (70-90%), por lo que se indica el alo-TCPH para mejorar la supervivencia <sup>(4)</sup>. Aquellos de riesgo interme-

dio (ELN2017) son considerados para alo-TCPH en la actualidad, aunque la negatividad de la EMR puede redefinir la estrategia de consolidación.

Al decidir consolidar con alo-TCPH debe haber un beneficio en la supervivencia libre de recaída de al menos el 10% comparado con la quimioterapia <sup>(3)</sup>.

No hay publicaciones en Argentina comparando ambos métodos de consolidación en LMA en primera RC.

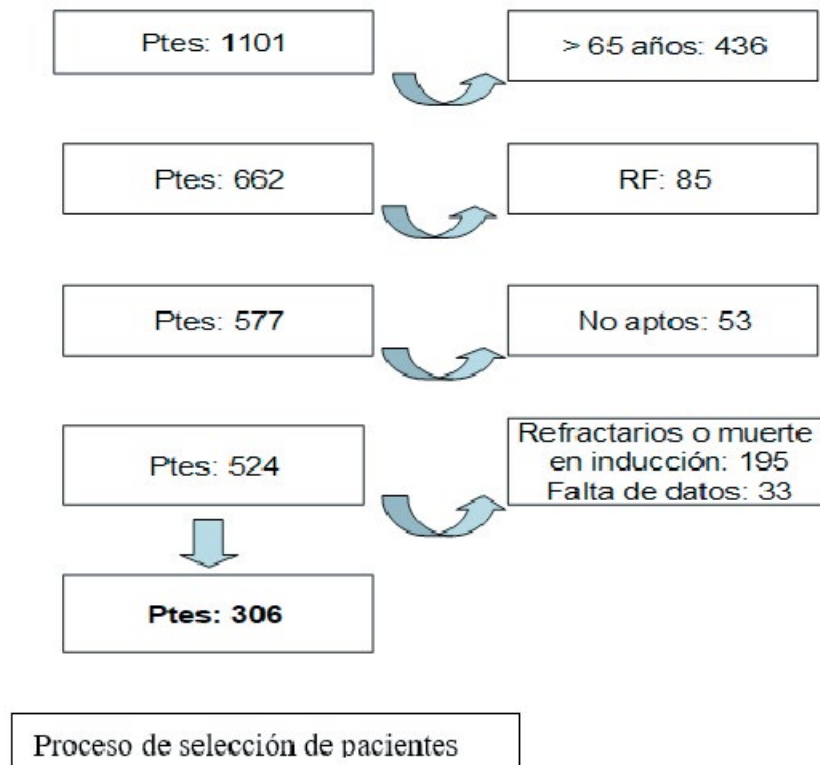
Los objetivos del trabajo fueron:

- Evaluar supervivencia libre de recaída (SLR), supervivencia global (SG) y la incidencia acumulativa de recaída (ICR) a 3 años, en pacientes con LMA en primera RC con riesgo citogenético intermedio (RI) y riesgo citogenético desfavorable (RD) tratados con alo-TCPH vs QMT como estrategia de postremisión.
- Evaluar la SLR, SG e ICR a 3 años, del alo-TCPH vs QMT como estrategia de postremisión por subgrupos: pacientes mayores o menores de 50 años y en aquellos de RI o RD.

### Material y métodos

Se analizó retrospectivamente una cohorte de 1101 pacientes con LMA no promielocítica de 19 centros de Argentina en el período comprendido entre enero 2014 a diciembre 2020. Se evaluaron pacientes de 16 a 65 años, con citogenético de RI y RD (según MRC), en RC morfológica posterior a tratamiento intensivo con quimioterapia (esquema 7/3 y dosis altas de citarabina en caso de requerir 2 líneas de inducción). Un total de 306 pacientes cumplía con estos criterios y fueron analizados en el estudio. Los pacientes recibieron consolidación con dos a cuatro ciclos de QMT con altas dosis de citarabina +/- antraciclinas) o 1 ciclo de QMT seguido de alo-TCPH (relacionado histoiéntico, no relacionado o haplo-iéntico; con acondicionamiento mieloablativo o de intensidad reducida) de acuerdo a la disponibilidad de donante y al riesgo citogenético. El seguimiento comenzó el día +60 de obtenida la respuesta completa. El acondicionamiento, la profilaxis para EICH y los cuidados de soporte se realizaron de acuerdo a los protocolos de cada centro de trasplante.

Las variables categóricas fueron comparadas por test chi<sup>2</sup> y las continuas por test de Mann-Whitney. La SG se calculó desde la fecha de RC hasta la fecha de muerte por cualquier causa. La SLR se definió como el tiempo desde la RC hasta la fecha de recaída o



muerte de cualquier causa. Las funciones de SG y SLR se estimaron con el método de Kaplan-Meier y su comparación se evaluó mediante la prueba de log-rank. Para evaluar los efectos independientes sobre la SG y SLR en un análisis multivariado se proyectó un estudio de regresión múltiple de Cox. La tasa de recaída fue estimada con incidencia acumulada de eventos competitivos y prueba de Gray, considerando recaída como evento de interés y muerte como evento competitivo.

### Resultados

La muestra fue de 306 pacientes, de los cuales 188 (61%) y 118 (39%) recibieron QMT y alo-TCPH como estrategia de postremisión. De los 118 alo-TPH fueron histoidénticos relacionados 54 (45.8%), no relacionados 10 (8.40%) y haploidénticos 54(45.8%). Con respecto a las características de los pacientes en el grupo alo-TCPH, los pacientes eran más jóvenes, con más LMA secundarias, de riesgo citogenético adverso y flt3-ITD+ (Tabla 1). La mediana de seguimiento fue de 15.2 meses.

Los resultados del análisis de SG, SLR, ICR global y por subgrupos acorde a edad y riesgo citogenético a 3 años se muestran en la figura 1.

El análisis multivariado se informa en la tabla 2.

### Discusión

La LMA es la indicación más importante para alo-TCPH. La decisión de realizar o no un alo-TCPH se ve obstaculizada por la falta de estudios aleatorizados comparando estrategias de posremisión en LMA en primera RC.

No hay estudios en Argentina comparando la terapia de posremisión en LMA.

En la muestra analizada de 306 pacientes con LMA en primera RC, el trasplante alogénico demostró superioridad en términos de SLR y SG así como menor ICR versus la consolidación con quimioterapia. Las diferencias fueron significativas en el análisis multivariado para SG, SLR e ICR en menores de 50 años y riesgo citogenético intermedio. En mayores de 50 años existe una tendencia no significativa a favor del trasplante, mientras que en pacientes con RD se encontraron diferencias significativas a favor del trasplante en el análisis univariado.

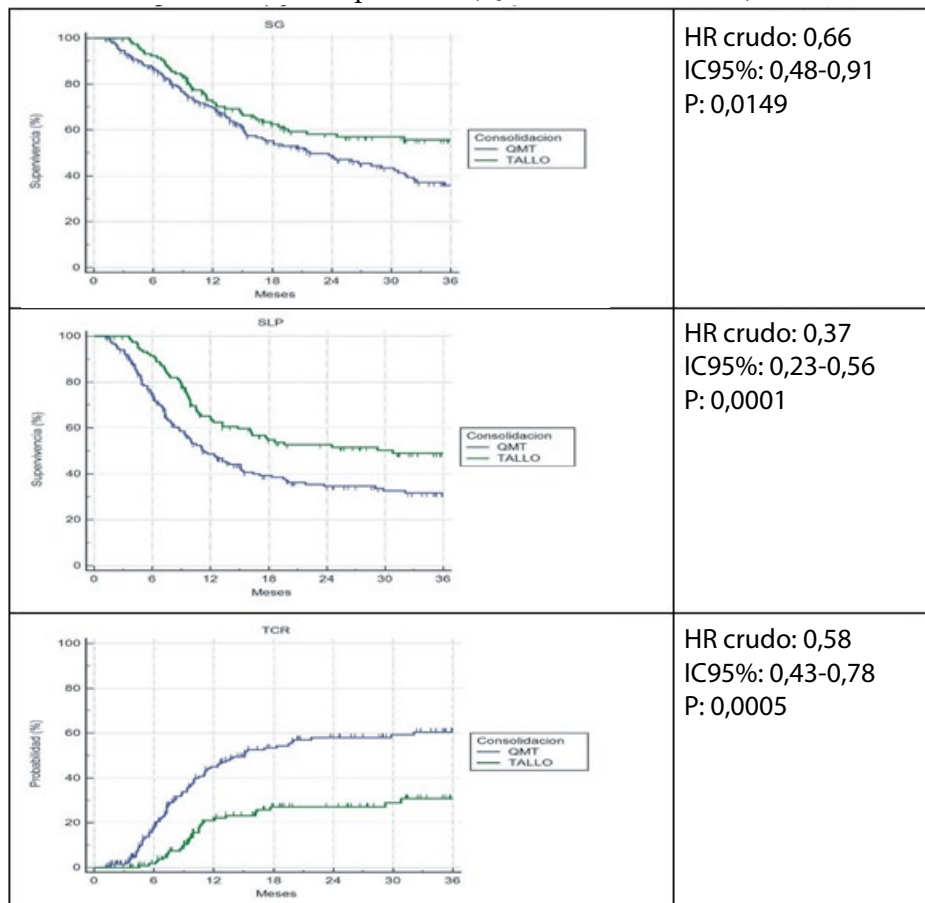
Es para tener en cuenta que el 45.8% de los pacientes asignados a alo-TCPH recibieron trasplante haploidéntico.

Tres meta-análisis reportaron SG superior en el grupo alo-HSCT en los grupos con citogenético intermedio<sup>(4)</sup>, en el grupo con citogenético adverso<sup>(5)</sup> y en ambos grupos<sup>(6)</sup>. En estos estudios la mayoría son

**Tabla 1.** Características de los pacientes

Características n (%)	Consolidación posremisión		P
	Quimioterapia	Trasplante alogénico	
Pacientes	188 (61)	118 (49)	
Edad media-rango	46,7 (17-65)	44,7 (17-65)	0,0943
Femeninos	86 (46)	64 (54)	0,1838
Masculinos	102 (54)	54 (46)	
Leucocitos media-rango	18700 (100-360000)	12000 (952-500000)	0,0377
LMA de novo	148 (79)	84 (71)	0,173
LMA secundaria	40 (21)	34 (29)	
Riesgo intermedio n217	139 (88)	78 (75)	0,0108
Riesgo desfavorable n43	18 (12)	25 (25)	
FLT3-ITD positivo n54	28 (19)	26 (25)	0,2906
FLT3-ITD negativo n195	119 (81)	76 (75)	
EMR positiva n85	52 (30)	33 (29)	0,9823
EMR negativa n201	121 (70)	80 (71)	

**Figura 1.** Resultados: SG, SLR e ICR en la cohorte total a 3 años  
Muestra: 306 pacientes (QMT: 188; TCPH: 118)



Resultados: SG, SLR e ICR en riesgo intermedio a 3 años  
Muestra: 217 pacientes (QMT: 139; TCPH: 78)

	<p>HR crudo: 0,78 IC95%: 0,53-1,15 p 0,22</p>
	<p>HR crudo: 0,67 IC95%: 0,48-0,96 p 0,03</p>
	<p>HR crudo: 0,4 IC95%: 0,26-0,62 p 0,0003</p>

Resultados: SG, SLR e ICR en riesgo desfavorable a 3 años  
Muestra: 43 pacientes (QMT: 25; TCPH: 18)

	<p>HR crudo: 0,38 IC95%: 0,16-0,89 p 0,0124</p>
	<p>HR crudo: 0,4 IC95%: 0,18-0,89 p 0,0130</p>
	<p>HR crudo: 0,37 IC95%: 0,15-0,93 p 0,0203</p>

Resultados SG, SLR e ICR en menores de 50 años a 3 años  
Muestra: 171 pacientes (QMT: 98; TCPH: 73)

	<p>HR crudo: 0,63 IC95%: 0,49-0,99 p 0,05</p>
	<p>HR crudo: 0,52 IC95%: 0,34-0,80 p 0,003</p>
	<p>HR crudo: 0,32 IC95%: 0,19-0,52 p 0,0001</p>

Resultados SG, SLR e ICR en mayores de 50 años a 3 años  
Muestra: 171 pacientes (QMT: 98; TCPH: 73)

	<p>HR crudo: 0,78 IC95%: 0,49-1,24 p 0,31</p>
	<p>HR crudo: 0,72 IC95%: 0,49-1,11 p 0,16</p>
	<p>HR crudo: 0,5 IC95%: 0,29-0,85 p 0,02</p>

**Tabla 2.** Resultados de SG, SLR e ICR comparando alo-TCPH vs QMT (HR ajustado)  
HR ajustado por edad, riesgo citogenético, flt3+/-, EMR al final de inducción +/-, recuento de leucocitos, de novo o secundaria.

	SG			SLP			ICR		
	HR ajustado	IC 95%	p	HR ajustado	IC 95%	p	HR ajustado	IC 95%	p
<b>Población global n306</b>									
alo-TCPH(n118) vs QMT (n188)	0,53	0,35-0,85	0,0067	0,49	0,32-0,75	0,0012	0,26	0,15-0,47	<0,0001
<b>Edad &gt;50 n135</b>									
alo-TCPH (n45) vs QMT (n90)	0,61	0,31-1,2	0,1582	0,63	0,33-1,19	0,1592	0,34	0,14-0,83	0,0185
<b>Edad &lt;50 n171</b>									
alo-TCPH (n73) vs QMT (n98)	0,51	0,27-0,96	0,0380	0,41	0,22-0,75	0,0045	0,24	0,11-0,51	0,0002
<b>Riesgo intermedio n217</b>									
alo-TCPH (n78) vs QMT (n139)	0,59	0,36-0,97	0,0404	0,51	0,32-0,82	0,0061	0,22	0,11-0,44	<0,0001
<b>Riesgo desfavorable n43</b>									
alo-TCPH (n25) vs QMT (n18)	0,33	0,08-1,31	0,1200	0,35	0,09-1,26	0,1109	0,3	0,06-1,43	0,1344

pacientes que se trasplantaron en la década del 90 y extrapolarlos a la actualidad para comparación se dificulta debido al uso restringido de donantes histoi-dénticos no emparentados, sin trasplantes haploide-nticos, el número limitado de trasplantes de intensidad reducida y la edad más joven de los pacientes.

El valor del trasplante fue difícil de confirmar debido al número limitado de pacientes en cada estudio, muchos pacientes asignados a alo-TCPH no lo pudieron realizar como así también pacientes asignados a quimioterapia en primer RC pueden haberse beneficiado de un trasplante en segunda RC.

Más recientemente se ha comparado TCPH (incluyendo trasplante de intensidad reducida y no relacionado) vs QMT en poblaciones seleccionadas de diferentes edades, Sin embargo no demostraron claramente un beneficio en la SG dentro de los subgrupos citogenéticos<sup>(7-9)</sup>.

Ostgard y col utilizaron el Registro Danés de Leucemia Aguda para evaluar 1031 pacientes de RI y RD,

menores de 70 años entre el 2000 y 2014, de los cuales el 19% recibió alo-TCPH en 1ª RC. Los pacientes asignados a trasplante eran más jóvenes, con menos comorbilidades pero con más pacientes con cariotipo adverso. Con una mediana de seguimiento de 2.2 años la ICR fue menor y la SG y SLR fue más prolongada en los que recibieron alo-TCPH en los subgrupos de riesgo intermedio o adverso, como también en los mayores o menores de 60 años<sup>(10)</sup>.

Avances recientes permiten el trasplante haploide-ntico o discordante en aquellos pacientes sin donante histoi-déntico o que requieren trasplante de urgencia<sup>(11-15)</sup>.

Los resultados presentados en nuestro trabajo confirman el beneficio del trasplante en este grupo de pacientes, debiendo siempre basarse la indicación en el riesgo individual de cada caso, teniendo en consideración características propias del paciente así como de la enfermedad que permitan definir con precisión el riesgo y beneficio del procedimiento.

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

### Bibliografía

1. Gupta V, Tallman MS, Weisdorf DJ y col. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for adults with acute myeloid leukemia: myths, controversies, and unknowns. *Blood*. 2011;117:2307-18.
2. Cornelissen JJ, Blaise D. Hematopoietic stem cell transplantation for patients with AML in first complete remission. *Blood*. 2016;127:62-70.
3. Cornelissen JJ, Gratwohl A, Schlenk RF y col. The European LeukemiaNet AML Working Party consensus statement on allogeneic HSCT for patients with AML in remission: an integrated-risk adapted approach. *Nat Rev Clin Oncol*. 2012;9:579-90.
4. Cornelissen JJ, van Putten WL, Verdonck Lf y col. Results of a HOVON/ SAKK donor versus no-donor analysis of myeloablative HLA-identical sibling stem cell transplantation in first remission acute myeloid leukemia in young and middle-aged adults: benefits for whom? *Blood*. 2007;109:3658-3666.
5. Yanada M, Matsuo K, Emi N y col. Efficacy of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation depends on cytogenetic risk for acute myeloid leukemia in first disease remission: a metaanalysis. *Cancer*. 2005;103:1652-1658.
6. Koreth J, Schlenk R, Kopecky KJ y col. Allogeneic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission: systematic review and meta-analysis of prospective clinical trials. *JAMA*. 2009;301:2349-2361.
7. Kurosawa S, Yamaguchi T, Uchida N y col. Comparison of allogeneic hematopoietic cell transplantation and chemotherapy in elderly patients with non-M3 acute myelogenous leukemia in first complete remission *Biol Blood Marrow Transplant*, 17 (2011), pp. 401-411.
8. Estey E, de Lima M, Tibes R et al. Prospective feasibility analysis of reduced-intensity conditioning (RIC) regimens for hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in elderly patients with acute myeloid leukemia (AML) and high-risk myelodysplastic syndrome (MDS) *Blood*, 109 (2007), pp. 1395-1400.
9. Mohty M, de Lavallade H, El-Cheikh J et al. Reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation for patients with acute myeloid leukemia: long term results of a “donor” versus “no donor” comparison *Leukemia*. 2009;23:194-196.
10. Østgård LSG, Lund JL, Nørgaard JM et al. Impact of allogeneic stem cell transplantation in first complete remission in acute myeloid leukemia: a national population-based cohort study. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2018;24:314-323.
11. Aversa F, Terenzi A, Tabilio A et al. Full haplotype-mismatched hematopoietic stem-cell transplantation: a phase II study in patients with acute leukemia at high risk of relapse. *J Clin Oncol*. 2005;23(15):3447-3454.
12. Huang XJ, Liu DH, Liu KY et al. Haploidentical hematopoietic stem cell transplantation without in vitro T-cell depletion for the treatment of hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant*. 2006;38(4):291-297.
13. Lu DP, Dong L, Wu T et al. Conditioning including antithymocyte globulin followed by unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and marrow transplantation can achieve comparable outcomes with HLA-identical sibling transplantation. *Blood*. 2006;107(8):3065-3073.
14. Huang XJ, Chang YJ. Unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and marrow hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011;17(2):197-204.
15. Rizzieri DA, Koh LP, Long GD et al. Partially matched, nonmyeloablative allogeneic transplantation: clinical outcomes and immune reconstitution. *J Clin Oncol*. 2007;25(6):690-697.



**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.

# Estudio comparativo de 4 métodos de dímero D en una serie de muestras de pacientes COVID-19



ARTÍCULO ORIGINAL

HEMATOLOGÍA  
Volumen 25 n° 3: 34-44  
Septiembre - Diciembre 2021

## Comparative study of 4 D-dimer methods in a samples serie of COVID-19 patients

Rosa C<sup>1</sup>, Zirpoli M<sup>1</sup>, Sueldo E<sup>2</sup>, Arias M<sup>2</sup>, Ceresetto J<sup>3</sup>, Duboscq C<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Laboratorio del Hospital Universitario Austral. Pilar. Argentina.

<sup>2</sup> Laboratorio de la Unidad Asistencial Dr. César Milstein. CABA. Argentina.

<sup>3</sup> Laboratorio del Servicio de Hematología del Hospital Británico. CABA. Argentina.

croসা@cas.austral.edu.ar

Fecha recepción: 3/12/2021

Fecha aprobación: 13/12/2021

TRABAJO CON MENCIÓN ESPECIAL E POSTER DURANTE EL CONGRESO CAHT 2021

**Palabras claves:** dímero D,  
COVID-19,  
SARS-CoV-2.

**Keywords:** D-dimer,  
COVID-19,  
SARS-CoV-2.

### Resumen

El objetivo del trabajo fue evaluar la correlación de los resultados de dímero D (DD) obtenidos en una serie de muestras de pacientes COVID-19 por los 4 métodos utilizados en 3 laboratorios. Población: 39 pacientes consecutivos con rt-PCR positiva para COVID-19, ingresados al Hospital Universitario Austral (HUA) y Hospital Solidario COVID Austral, en octubre 2020; 22 hombres y 17 mujeres. Edad: 12-82 años, con una media de 52 años. Las 46 muestras de plasma citratado obtenidas fueron procesadas inmediatamente en el centro 1 (HUA), alicuotadas y congeladas a -70°C para su derivación a los otros centros. Determinación de DD: Centro 1: VIDAS<sup>®</sup> DEX2, equipo VIDAS 3 (BioMérieux) (Método A). Centro 2: Innovance D-dimer, equipo CS 2500 (Siemens) (Método B). En el centro 3 fueron procesadas por Liatest DDi plus, equipo STA Compact Max (Stago) (Método C) y por HemosIL D dimer, equipo ACL TOP 500 (Instrumentation Laboratory) (Método D).

Para el análisis estadístico se utilizó el EP Evaluator<sup>®</sup>: comparación de múltiples instrumentos y comparación de 2 instrumentos. Los niveles de DD encontrados para el método A: media 3833 ng/ml FEU (rango: 170-34390); método B: media: 4567 ng/ml FEU (180-36910); método C: media: 3916 ng/ml FEU (189-28520); método D: media: 3429 ng/ml FEU (230-15046) (se convirtió el resultado obtenido en unidades DD a unidades FEU utilizando un factor de conversión 2). La prueba de comparación de múltiples instrumentos, utilizando un Error Total permitido (ETa) de 34.53%, calculado por variabilidad biológica mínima para el método A (considerado de referencia), mostró que las diferentes metodologías no eran comparables. Al comparar cada una de las metodologías B, C y D vs A, la comparación VIDAS<sup>®</sup> DEX2 vs Liatest DDi plus mostró un coeficiente de correlación: (R) 0.9501, pendiente: 0.941 (0.850-1.031), intercepto: 310.1 (-375.5-995.8). El resto de las comparaciones mostraron coeficientes

de correlación menores de 0.86. Si bien hubo una coincidencia del 80% (37/46) entre las diferentes metodologías cuando se compararon pacientes con valores mayores al nivel de corte (500 ng/ml FEU), la proporción del aumento de DD respecto al límite superior normal (LSN) fue diferente para cada método. Por lo tanto, en nuestra serie de muestras de pacientes COVID-19, los 4 métodos para la determinación cuantitativa de DD no son comparables, coincidiendo con lo descrito en la bibliografía para otras patologías. Por este motivo no se deberían extrapolar valores de corte absolutos o en función del LSN entre los diferentes métodos.

### Abstract

The aim of this study was to evaluate the correlation of D-Dimer (DD) results obtained in a series of samples from COVID-19 patients by 4 methods used in 3 laboratories. Population: 39 consecutive patients with positive rt-PCR for COVID-19, admitted to Hospital Universitario Austral (HUA) and Hospital Solidario COVID Austral, in October 2020; 22 men and 17 women. Age: 12-82 years, with an average of 52 years. The 46 citrated plasma samples obtained were immediately processed in center 1 (HUA), aliquoted and frozen at  $-70^{\circ}\text{C}$  for their referral to the other centers. Determination of DD: Center 1: VIDAS<sup>®</sup> DEX2, VIDAS 3 unit (BioMérieux) (Method A). Center 2: Innovance D-dimer, in CS 2500 (Siemens) (Method B). In center 3, they were processed by Liatest DDi plus, in STA Compact Max (Stago) (Method C) and by HemosIL D dimer, in ACL TOP 500 (Instrumentation Laboratory) (Method D). The EP Evaluator<sup>®</sup> was used for statistical analysis: comparison of multiple instruments and comparison of 2 instruments. The levels of DD found for method A: mean 3833 ng / ml FEU (range: 170-34390); method B: mean: 4567 ng / ml FEU (180-36910); method C: mean: 3916 ng / ml FEU (189-28520); method D: mean: 3429 ng / ml FEU (230-15046) (the result obtained in DD units was converted to FEU units using a conversion factor of 2). The multiple instrument comparison test, using a Total Allowable Error (TEa) of 34.53%, calculated by minimal biological variability for method A (considered as reference), showed that the different methodologies were not comparable. When comparing each of the methodologies B, C and D vs A, the comparison VIDAS<sup>®</sup> DEX2 vs Liatest DDi plus showed a correlation co-

efficient: (R) 0.9501, slope: 0.941 (0.850-1.031), intercept: 310, 1 (-375.5-995.8). The rest of the comparisons showed correlation coefficients less than 0.86. Although there was an 80% (37/46) agreement between the different methodologies when comparing patients with values greater than cut off (500 ng / ml FEU), the proportion of the increase in DD with respect to the upper limit of normal (ULN) was different for each method. Therefore, in our series of COVID-19 patient samples, the 4 methods for the quantitative determination of DD are not comparable, coinciding with what is described in the bibliography for other pathologies. For this reason, absolute or ULN cutoff values should not be extrapolated between the different methods.

### Introducción

El dímero D (DD) es un marcador de activación de la coagulación y de la fibrinólisis. El mismo se produce a partir del fibrinógeno, por la acción secuencial de la trombina, el factor XIII activado (FXIIIa) y la plasmina. Como resultado se obtienen un conjunto heterogéneo de productos de degradación de la fibrina, con distintos pesos moleculares y que contienen por lo menos un enlace entre dos dominios D de dos moléculas de fibrinógeno<sup>(1-2)</sup>. El ensayo de DD es una herramienta del laboratorio útil para excluir enfermedad tromboembólica venosa en pacientes con probabilidad clínica baja o moderada, según índices de Wells o Ginebra, en donde la determinación de DD tiene un alto valor predictivo negativo<sup>(3)</sup>. Debido a la importancia de esta prueba de laboratorio en la toma de decisiones clínicas, un número considerable de diferentes ensayos de DD han sido desarrollados por la industria de diagnóstico. Los mismos varían desde inmunoensayos enzimáticos clásicos y avanzados a inmunoensayos con látex, y también se han desarrollado métodos de tipo "Point Of Care Test" (POCT). Los ensayos de última generación son fáciles de realizar y se pueden adaptar en la rutina de los autoanalizadores de laboratorio. De acuerdo con los resultados de la encuesta sobre DD en Latinoamérica realizada por el Subcomité de Alteraciones de la Fibrinólisis del Grupo Cooperativo Latinoamericano de Hemostasia y Trombosis (Grupo CLAHT), presentados en el XXVI Congreso del Grupo CLAHT de Costa Rica en 2019, los ensayos de laboratorio más utilizados son los inmuno-turbidimétricos (62%) y enzimo-inmunoensayos con fluo-

rescencia ELFA (*Enzyme-Linked Immunofluorescence Assay*) (14%)<sup>(4)</sup>. Los ensayos para el antígeno DD utilizan anticuerpos monoclonales que reaccionan con los epitopes encontrados en el fragmento DD de la fibrina, pero no con el dominio D del fibrinógeno u otros productos de degradación del fibrinógeno. Los anticuerpos reaccionan con los epitopes conformacionales generados por el enlace inducido por el FXIIIa de los dominios D adyacentes dentro de un polímero de fibrina. Para algunos anticuerpos monoclonales, la degradación de la fibrina reticulada por la plasmina es un requisito adicional para la generación del epitope. En muestras clínicas de plasma, los ensayos detectan una variedad de compuestos de degradación de la fibrina de diferentes pesos moleculares, incluido el fragmento DD, así como productos de degradación de fibrina de mayor peso molecular y oligómeros X de la fibrina. Debido a las diferencias en la reactividad del epitope, la armonización de los ensayos de DD sólo se puede lograr con calibradores que contengan una variedad similar de productos derivados de la fibrina reticulada. Aunque los diferentes ensayos de DD son ampliamente utilizados con éxito, la falta de comparabilidad entre los diferentes métodos ha sido observada tanto en estudios clínicos como en los resultados de los programas de evaluación externa de la calidad. Esto dificulta el intercambio de resultados del mismo paciente entre diferentes laboratorios utilizando diferentes métodos, así como la comparación de los resultados de diferentes estudios clínicos. Esta variación numérica en los resultados de las pruebas se debe principalmente a la heterogeneidad de los productos de degradación de la fibrina en muestras de pacientes y la diferente especificidad de los distintos anticuerpos utilizados en los ensayos disponibles comercialmente para DD. Aunque este problema es complejo, existe la necesidad de lograr la comparabilidad de los resultados de las pruebas del DD. Aunque se han hecho numerosos esfuerzos, hasta el momento no se ha logrado estandarizar ni tampoco armonizar los resultados de estos ensayos<sup>(5-7)</sup>.

En los distintos ensayos se utilizan dos tipos de calibradores y, en consecuencia, existen dos tipos de unidades en que se expresan los resultados de DD: las unidades equivalentes de fibrinógeno (FEU en inglés), y las unidades dímero D (DDU en inglés). Las unidades DDU expresan el peso del fragmento de DD propiamente dicho, en cambio las unidades

FEU expresan el peso del fragmento en términos del fibrinógeno convertido en fibrina, de la cual el DD proviene. Además los resultados se expresan en distintas unidades de concentración: ng/mL, mg/L, µg/mL y otras. El *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) es una organización sin fines de lucro que promueve el desarrollo y el uso de normas y pautas de consenso de laboratorio. Según la guía CLSI H59: "*A Quantitative D-dimer for the Exclusion of Venous Thromboembolic Disease*", los resultados deben informarse en las unidades que especifica el fabricante y no deben convertirse<sup>(8)</sup>.

**Dímero D y COVID-19.** Los pacientes con la infección moderada o severa por el SARS-CoV-2 pueden presentar en su evolución una coagulopatía asociada al COVID-19 o CAC, que se caracteriza por un estado protrombótico. El DD ha sido propuesto como un marcador de laboratorio de utilidad pronóstica al ingreso y durante la internación como marcador de severidad de la enfermedad. Diferentes estudios han encontrado niveles de DD elevados de forma significativa en pacientes con COVID-19 grave, en comparación con aquéllos cuyos síntomas fueron más leves y con los sujetos sanos: Lippi y Plebani<sup>(9)</sup> informaron que el DD estuvo aumentado en un 36-43% de los pacientes según diferentes reportes. Guan y col<sup>(10)</sup>, presentaron en *New England Journal of Medicine* un estudio retrospectivo con 1099 pacientes de 552 hospitales de China, en donde analizaron las características clínicas de la enfermedad provocada por el COVID-19. Los niveles de DD se encontraron elevados en el 46% de todos los pacientes, en el 60% de los pacientes que presentaron enfermedad severa y en el 69% de los pacientes que alcanzaron el punto final primario compuesto: admisión en unidad de cuidados intensivos (UCI), requerimiento de ventilación mecánica o muerte. En un metaanálisis de 23 artículos publicado en junio del 2020 por Bao y col<sup>(11)</sup>, el DD estuvo aumentado en un 29%, 534 de 1845 pacientes. En los casos severos el DD estuvo elevado 2.74 veces, con respecto a los no severos (1.29 vs 0.47 mg/L). En un análisis "pooleado" realizado a partir de 4 estudios y publicado por Lippi y Falavero<sup>(12)</sup>, propusieron que un DD de 3.0 mg/L o 6 veces el límite superior normal (LSN) podría ser considerado como valor de corte de severidad de la enfermedad. Zhou y col<sup>(13)</sup> analizaron el curso clínico y los factores de riesgo para mortalidad en un

estudio de cohorte retrospectivo con 191 pacientes internados con COVID-19 en China. Encontraron que en un análisis multivariado los pacientes con un DD >1 ug/ml al ingreso o 2 veces el LSN tenían 18 veces más riesgo de mortalidad, con un p valor significativo ( $p=0.0033$ ). En abril 2020, Zhang y col<sup>(14)</sup>, en los 343 pacientes analizados, encontraron que la mortalidad hospitalaria fue significativamente mayor (HR: 51.5,  $p<0.001$ ) en pacientes con DD  $\geq 2.0$   $\mu\text{g/ml}$  o 4 veces el LSN al ingreso, que en aquéllos que tenían DD < 2.0  $\mu\text{g/ml}$  al ingreso. Hasta este momento la recomendación de los expertos de monitorizar los niveles de DD al ingreso y cada 24-48h, como herramienta en la evaluación del pronóstico y de la progresión de la enfermedad tuvo una fuerza de recomendación débil a favor<sup>(15)</sup>. En otro estudio retrospectivo presentado por Lodigiani y col<sup>(16)</sup>, pudimos observar la evolución de los valores de dímero D de 388 pacientes durante la internación en un hospital académico de Milán, comparando los resultados obtenidos en distintos escenarios en los pacientes sobrevivientes y no sobrevivientes (Tabla 1). Otro trabajo sobre el valor pronóstico del DD en pacientes hospitalizados con COVID-19, fue publicado en agosto 2020 por Berger y col<sup>(17)</sup>, en el que estudiaron 2377 pacientes adultos en un sistema hospitalario de New York. El 76% tuvo valores mayores al punto de corte del método al ingreso (DD>230 ng/ml DDU). Los pacientes que presentaron valores de DD elevados al ingreso tuvieron 2.4 veces (aOR) más probabilidad de tener enfermedad crítica que aquéllos con DD normal al ingreso ( $p<0.001$ ). Los resultados de este estudio reforzaron el concepto de que el COVID-19 es una condición coagulopática y

que el DD representaba un vínculo directo entre la infección por SARS-CoV-2 y el mal pronóstico.

La *International Society of Thrombosis and Haemostasis* (ISTH) en su guía interina para el manejo de la coagulopatía asociada al COVID-19, en donde propuso al DD como el marcador de laboratorio más importante para el seguimiento, declararon que si bien no es posible establecer un valor de corte, 3 a 4 veces el LSN del método puede considerarse como un aumento significativo al ingreso<sup>(18)</sup>.

Un metaanálisis publicado por Nopp y col en setiembre de 2020 demostró que los pacientes que desarrollaron tromboembolismo venoso (TEV) mostraron niveles más elevados de DD<sup>(19)</sup>. En lo que respecta a la utilidad del DD en predecir TEV en pacientes COVID-19 sobrevivientes no mecánicamente ventilados, Nauka y col encontraron que a mayor nivel del biomarcador al ingreso, aumentaba el riesgo de desarrollar TEV y con DD mayor a 5 ug/ml al ingreso los pacientes tuvieron 10.7 veces más riesgo<sup>(21)</sup>. La guía de diagnóstico, prevención y tratamiento de TEV en COVID-19 del consenso de expertos de la ISTH con respecto a DD declaró que puede NO ser un predictor confiable de TEV, sino más bien un marcador de mal pronóstico. NO recomienda el tamizaje de rutina de TEV basado en niveles elevados de DD. En cuanto a la profilaxis de TEV en pacientes hospitalizados COVID-19 NO internados en UCI, el DD mayor a 6 veces el LSN o DD >6 x LSN, parece ser un predictor consistente de eventos trombóticos y de mal pronóstico. En cuanto a la profilaxis de TEV en pacientes hospitalizados COVID-19 en UCI el DD >6 x LSN, el índice de coagulopatía inducida por sepsis (CIS)  $\geq 4$ , proteína C reactiva, troponina

**Tabla 1.** Medianas e intervalos (Q1-Q3) de dímero D en pacientes internados sobrevivientes y no sobrevivientes, expresados en ng/ml FEU<sup>(16)</sup>.

	Escenario	Días 1-3	Días 4-6	Días 7-9
Sobrevivientes	Total	n=215	n=163	n=121
		<b>353 (236-585)</b>	<b>389 (246-685)</b>	<b>529 (303-1138)</b>
	UCI	<b>615 (456-1005)</b>	<b>605 (370-824)</b>	<b>3137 (1486-6571)</b>
	Sala general	<b>329 (304-386)</b>	<b>378 (337-412)</b>	<b>472 (386-650)</b>
No sobrevivientes	Total	n=70	n=38	n=22
		<b>869 (479-2103)</b>	<b>943 (611-2618)</b>	<b>1494 (633-6320)</b>
	UCI	<b>1022 (615-3681)</b>	<b>1301 (961-28397)</b>	<b>7746 (2914-12578)</b>
	Sala general	<b>868 (600-1119)</b>	<b>847 (624-1643)</b>	<b>1093 (658-3397)</b>

Adaptado de Lodigiani et al. *Thrombosis Research* 191 (2020):9-14.

y otros marcadores del índice de CID, tendrían un valor pronóstico. En lo que respecta a tratamiento de TEV en pacientes hospitalizados COVID-19, no se recomienda cambiar los regímenes de tratamiento basándose únicamente en el DD<sup>(21)</sup>.

Desde el inicio de la pandemia de COVID-19 se han publicado numerosos estudios utilizando diferentes métodos y reactivos de DD y expresando los resultados con diferentes unidades, si bien persiste el problema de la falta de estandarización y armonización de este ensayo. El objetivo de nuestro trabajo fue evaluar si hay correlación de los resultados de DD obtenidos en una serie de muestras de pacientes COVID-19, por 4 métodos utilizados en 3 diferentes laboratorios.

### Materiales y métodos

Población: 39 pacientes consecutivos con rt-PCR positiva para COVID-19 ingresados al Hospital Universitario Austral y Hospital Solidario COVID Austral durante el mes de octubre 2020: 22 hombres

y 17 mujeres. Edad: entre 12-82 años, con una media de 52 años. Las 46 muestras de plasma citratado de descarte fueron procesadas con el tubo primario en el laboratorio del Hospital Universitario Austral (centro 1). Luego las mismas fueron alicuotadas y congeladas a -70°C para su posterior derivación a los otros centros. La determinación de DD en el centro 1 se realizó con el método VIDAS® DEX2 en equipo VIDAS 3 (BioMérieux) (Método A). En el laboratorio de la Unidad Asistencial Dr. César Milstein (centro 2) se utilizó el método Innovance D-dimer en un equipo CS 2500 (Siemens) (Método B). En el laboratorio del Servicio de Hematología del Hospital Británico (centro 3), fueron procesadas por el método Liatest DDi plus en un coagulómetro STA Compact Max (Stago) (Método C) y también por el método HemosIL D dimer en un coagulómetro ACL TOP 500 (Instrumentation Laboratory) (Método D). En la tabla 2 se resumen los diferentes métodos utilizados en los 3 centros, sus fundamentos y los reactivos y equipos utilizados.

**Tabla 2.** Métodos y equipamiento utilizados en cada centro.

Centro	Método	Fundamento	Equipo
1	A. VIDAS® DEX2	Enzimoinmunoensayo con detección por fluorescencia (ELFA)	VIDAS 3
2	B. Innovance D-dimer	Inmunturbidimétrico cuantitativo	CS 2500
3	C. Liatest DDi plus D. HemosIL D dimer	Inmunturbidimétrico cuantitativo Inmunturbidimétrico cuantitativo	STA Compact Max ACL TOP 500

Para el análisis estadístico se utilizó el programa informático EP Evaluator®: comparación de múltiples instrumentos y comparación de 2 instrumentos.

### Resultados

En la tabla 3 podemos observar los valores de DD obtenidos por los 4 métodos diferentes, expresados en ng/ml FEU. Los resultados obtenidos en unidades DDU por el método D se convirtieron a unidades FEU utilizando un factor de conversión igual a 2.

En la tabla 4 se resumen los valores medios calculados y los rangos de DD para los 4 ensayos.

La prueba de comparación de múltiples instrumentos, utilizando un Error Total permitido (ETa) de 34.53%, calculado por variabilidad biológica mínima para el método A (considerado de referencia) mostró que las diferentes metodologías no eran comparables. En la figura 1 podemos ver el gráfico con el índice de error por instrumento.

En la figura 2 vemos la curva de regresión de Deming para la comparación de múltiples instrumentos.

Si bien hubo una coincidencia del 80% (37/46) entre las diferentes metodologías cuando se compararon pacientes con valores mayores al nivel de corte (500 ng/ml FEU), la proporción del aumento de DD respecto al LSN fue diferente para cada método.

Luego al comparar por pares cada una de las metodologías B, C y D vs A como referencia, el ensayo VIDAS® DEX2 vs Liatest DDi plus mostró un coeficiente de correlación: (R) 0.9501, con una pendiente: 0.941 (0.850 a 1.031), y un intercepto: 310.1 (-375.5 a 995.8). El resto de las comparaciones mostraron coeficientes de correlación menores de 0.86. En la tabla 5 podemos ver los resultados de la comparación entre 2 instrumentos.

Además en la figura 3 podemos ver los gráficos de la regresión de Deming que surgen de la comparación entre 2 métodos.

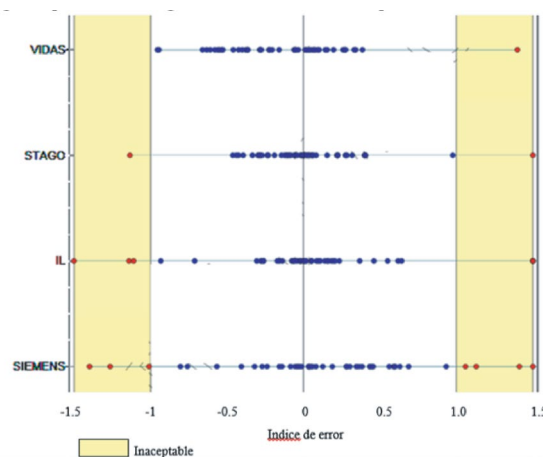
**Tabla 3.** Resultados de DD de los pacientes COVID-19 expresados en ng/ml FEU.

<b>Paciente</b>	<b>VIDAS DEX2 ng/ml FEU V. corte: 500</b>	<b>Liatest DDi plus ng/mL FEU V. corte: 500</b>	<b>HemosIL D dimer ng/mL FEU V. corte: 500</b>	<b>Innovance D-dimer ng/ml FEU V.corte: 500</b>
1	587	510	356	540
2	863	900	840	920
3	342	430	436	440
4	170	290	330	180
5	1027	1220	1186	1390
6	3999	5602	4630	6160
7	1304	1520	1578	1870
8	1732	2180	3120	2960
9	3006	3160	3720	3870
10	709	870	592	590
11	1342	2000	2004	2390
12	2385	1960	1970	2880
13	4163	3540	4430	4130
14	254	240	264	240
15	242	310	312	420
16	701	890	1618	840
17	9974	21200	10942	13510
18	4254	4050	4204	7110
19	34390	28520	14144	36160
20	468	535	724	650
21	723	652	624	330
22	4923	3320	14842	5990
23	284	189	230	440
24	472	530	490	350
25	680	789	704	500
26	321	320	312	310
27	2867	3730	3436	3120
28	7156	5500	2976	4150
29	532	550	512	420
30	639	705	712	820
31	541	630	660	330
32	586	550	604	370
33	747	786	712	690
34	455	402	440	380
35	10651	9920	9678	11650
36	14800	11750	10016	14860
37	1906	1730	2934	1950

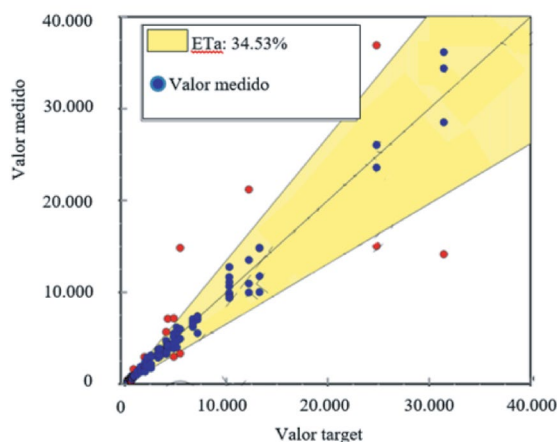
38	6224	6820	7068	6570
39	3264	3430	4728	5670
40	5534	7020	7378	7310
41	3886	4500	5160	5130
42	9502	11100	9374	12750
43	26040	23586	15046	36910
44	204	253	250	260
45	952	936	904	920
46	502	489	560	640

**Tabla 4.** Valores de DD medios, mínimos y máximos obtenidos por los 4 métodos.

	<b>VIDAS DEX2</b> ng/ml FEU Método A	<b>Innovance D-dimer</b> ng/ml FEU Método B	<b>Liatest DDi plus</b> ng/mL FEU Método C	<b>HemosIL D dimer</b> ng/mL FEU Método D
<b>Dímero D</b> Media (mín-máx)	3833 (170-34.390)	4567 (180-36.910)	3916 (189-28.520)	3429 (230-15.046)



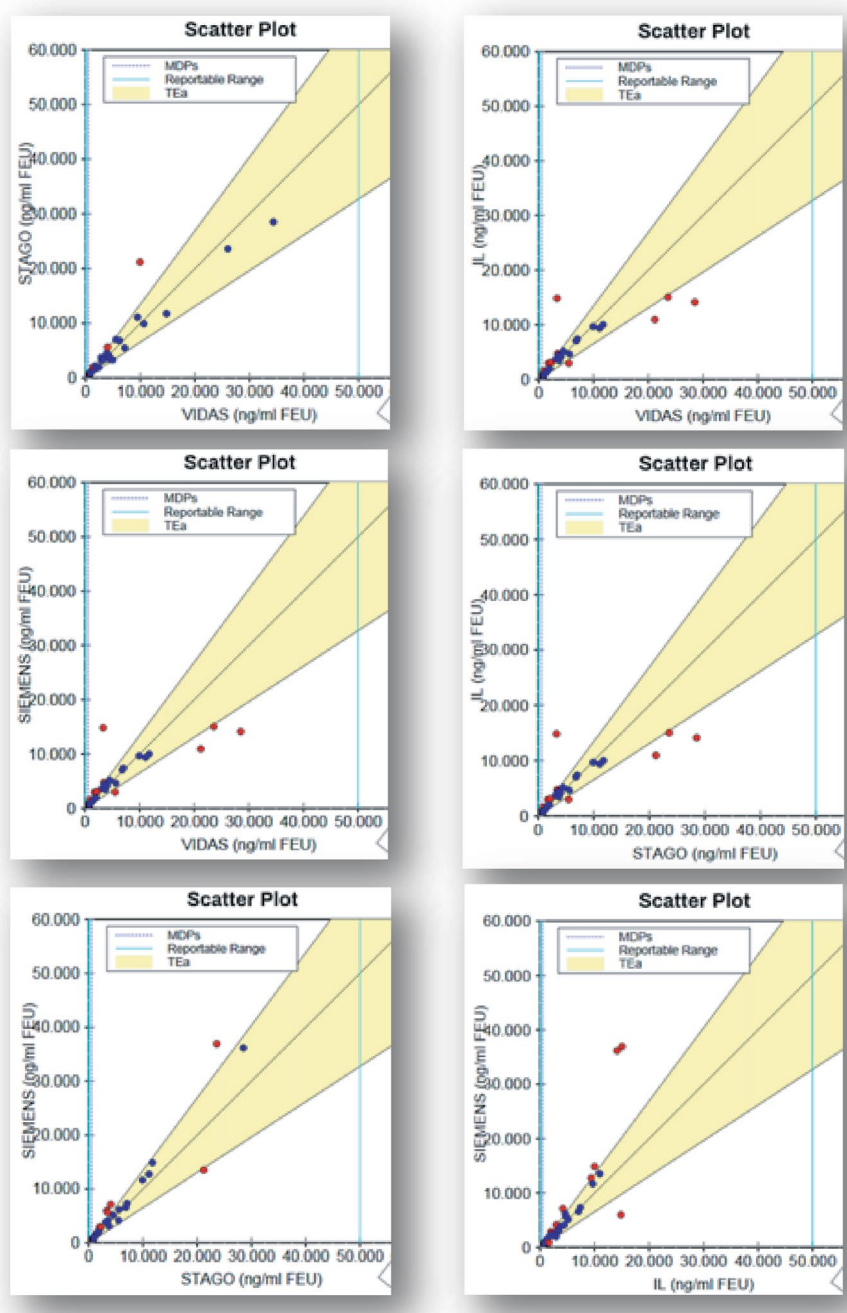
**Figura 1.** Índice de error por instrumento en la comparación entre los 4 métodos utilizando EP Evaluator®.



**Figura 2.** Gráfico de comparación entre los 4 métodos utilizando EP Evaluator®.

**Tabla 5.** Resultados de los coeficientes de correlación de la regresión de Deming aplicando el método de comparación de 2 instrumentos con el EP Evaluator®.

Coeficiente de correlación (R) Regresión de Deming	Liatest DDi plus <b>Stago</b>	HemosIL D dimer <b>IL</b>	Innovance D-dimer <b>Siemens</b>
VIDAS DEX2. Biomerieux	0.9501	0.8566	0.8566
Liatest DDi plus. <b>Stago</b>		0.8566	0.9550
Innovance D-dimer <b>Siemens</b>		0.8534	



**Figura 3.** Gráfico de comparación entre 2 métodos utilizando EP Evaluator®.

En la tabla 6 se muestran los porcentajes de concordancia entre 2 ensayos y el número de casos de discordancias entre los valores obtenidos por los mismos, en distintos niveles de DD expresados como n veces el LSN.

### Discusión

La degradación de la fibrina da como resultado la formación de productos de degradación de diferentes pesos moleculares que incluyen al DD. Los ensayos

**Tabla 6.** Porcentaje de concordancia y número de casos de discordancia de los ensayos por pares en diferentes niveles de DD, tomando como referencia el método VIDAS DEX2.

Niveles DD VIDAS DEX2	n/46 (total muestras)	Liatest DDi plus vs VIDAS DEX2 % concordancia (discordancias)	HemosIL D dimer vs VIDAS DEX2 % concordancia (discordancias)	Innovance D-dimer vs VIDAS DEX2 % concordancia (discordancias)
<LSN:500ng/ml FEU	10/46	80 (2)	90 (1)	90 (1)
>LSN:500ng/ml FEU	36/46	97 (1)	97 (1)	86 (5)
<2xLSN:1000ng/ml FEU	23/46	100 (0)	96 (1)	100 (0)
>2xLSN:1000ng/ml FEU	23/46	100 (0)	100 (0)	100 (0)
<3xLSN:1500ng/ml FEU	26/46	92 (2)	88 (3)	92 (2)
>3xLSN:1500ng/ml FEU	20/46	100 (0)	100 (0)	100 (0)
<4xLSN:2000ng/ml FEU	28/46	96 (1)	89 (3)	93 (2)
>4xLSN:2000ng/ml FEU	18/46	94 (1)	94 (1)	100 (0)
<6xLSN:3000ng/ml FEU	30/46	97 (1)	93 (2)	97 (1)
>6xLSN:3000ng/ml FEU	16/46	100 (0)	94 (1)	100 (0)
<12xLSN:6000ng/ml FEU	38/46	97 (1)	95 (2)	92 (3)
>12xLSN:6000ng/ml FEU	8/46	87 (1)	87 (1)	87 (1)
<16xLSN:8000ng/ml FEU	40/46	100 (0)	97 (1)	100 (0)
>16xLSN:8000ng/ml FEU	6/46	100 (0)	100 (0)	100 (0)
<24xLSN:12000ng/ml FEU	43/46	98 (1)	98 (1)	95 (2)
>24xLSN:12000ng/ml FEU	3/46	33 (1)	33 (1)	100 (0)
<48xLSN:24000ng/ml FEU	44/46	100 (0)	100 (0)	100 (0)
>48xLSN:24000ng/ml FEU	2/46	50 (1)	0 (2)	100 (0)

comerciales reconocen la presencia en las muestras clínicas de múltiples formas de productos de degradación de la fibrina, con diferentes especificidades. Como resultado, la ausencia de un calibrador internacional para DD y la marcada discrepancia en los valores de DD en las mismas muestras medidos por ensayos de diferentes fabricantes se han convertido en los principales problemas de la determinación del DD. Un ensayo que utilice un anticuerpo monoclonal con igual especificidad para todas las formas de productos de degradación de la fibrina, independientemente de sus pesos moleculares, podría ayudar a resolver este problema<sup>(22)</sup>. El análisis de los porcentajes de concordancia entre pares de métodos nos mostró que podemos tener discordancias en todos los niveles de DD. En el punto de corte >500

ng/ml FEU encontramos 5 casos en que el método 2 arrojó un valor por debajo del LSN con respecto al método 1 tomado como referencia. En los niveles >2 x LSN o 1000 ng/ml FEU y >4 x LSN o 2000 ng/ml FEU, no se encontraron discordancias entre los pares de ensayos. En los valores más elevados, por encima de 16 x LSN o 8000 ng/ml FEU, si bien los porcentajes de concordancia fueron muy bajos, hay que tener en cuenta que la cantidad de muestras analizadas en ese rango fue menor. Esta observación está en línea con los reportes de las encuestas de control de calidad externo en los que son notables las discordancias que se observan en los resultados de las muestras que tienen niveles muy elevados de DD procesadas por los diferentes métodos utilizados por los participantes.

Durante la pandemia surgieron numerosas publicaciones en donde se proponen diferentes puntos de corte para utilizar el DD por su valor pronóstico al ingreso a la internación de los pacientes, pero dado que los métodos no son comparables no deberíamos extrapolar los valores absolutos o en función del LSN si utilizamos otro método diferente al de los autores del estudio. Por otra parte en numerosas publicaciones no se especificaba el reactivo y equipamiento utilizado e incluso se han reportado errores en los informes de las unidades en que se expresaron los resultados obtenidos de DD.

### Conclusiones

En la serie de muestras de pacientes COVID-19 analizadas, los 4 métodos para la determinación cuantitativa de DD no son comparables, coincidiendo con lo descrito en la bibliografía para otras patologías. Por este motivo no se deberían extrapolar valores de corte absolutos o en función del LSN entre los diferentes métodos.

**Agradecimientos.** Los autores agradecen a Siemens Healthcare Argentina por proveer un equipo de Innovance D-dimer para la realización de este estudio.

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

### Bibliografía

- Linkins LA, Takach Lapner S. Review of D-dimer testing: Good, Bad, and Ugly. *Int J Lab Hematol.* 2017 May;39 Suppl 1:98-103.
- Johnson ED, Schell JC, Rodgers GM. The D-dimer assay. *Am J Hematol.* 2019 Jul;94(7):833-839.
- Duboscq C, Ceresetto J, Martinuzzo M y col. Uso y limitaciones del dímero D en la exclusión del tromboembolismo venoso. *Hematología.* 2019; 22(1), 55-65.
- Privitera V, Rosa C. Dímero-D en COVID-19: utilidad clínica y costo-efectividad. *Hematología.* 2021;25(Número Extraordinario XXV Congreso Argentino de Hematología):321-333.
- Dempfle CE. Validation, calibration, and specificity of quantitative D-dimer assays. *Semin Vasc Med.* 2005 Nov;5(4):315-20.
- Meijer P, Klufft C. The harmonization of quantitative test results of different D-dimer methods. *Semin Vasc Med.* 2005 Nov;5(4):321-7.
- Longstaff C, Adcock D, Olson JD, Jennings I, Kitchen S, Mutch N, Meijer P, Favalaro EJ, Lippi G, Thachil J. Harmonisation of D-dimer - A call for action. *Thromb Res.* 2016 Jan;137:219-220.
- CLSI Quantitative D-dimer for the Exclusion of Venous Thromboembolic Disease, approved guidelines 1st Edition, CLSI documents H59 A Wayne PA: Clinical Laboratory Standards Institute 2011.
- Lippi G, Plebani M. Laboratory abnormalities in patients with COVID-2019 infection. *Clin Chem Lab Med.* 2020 Jun 25;58(7):1131-1134.
- Guan WJ, Ni ZY, Hu Y y col; China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020 Apr 30;382(18):1708-1720.
- Bao J, Li C, Zhang K, Kang H, Chen W, Gu B. Comparative analysis of laboratory indexes of severe and non-severe patients infected with COVID-19. *Clin Chim Acta.* 2020 Oct;509:180-194.
- Lippi G, Favalaro EJ. D-dimer is Associated with Severity of Coronavirus Disease 2019: A Pooled Analysis. *Thromb Haemost.* 2020 May;120(5):876-878.
- Zhou F, Yu T, Du R y col. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet.* 2020 Mar 28;395(10229):1054-1062. Erratum in: *Lancet.* 2020 Mar 28;395(10229):1038.
- Zhang L, Yan X, Fan Q, Liu H, Liu X, Liu Z, Zhang Z. D-dimer levels on admission to predict in-hospital mortality in patients with Covid-19. *J Thromb Haemost.* 2020 Jun;18(6):1324-1329.
- Moreno G, Carbonel R, Bodí M, Rodríguez A. Revisión sistemática sobre la utilidad pronóstica del dímero-D, coagulación intravascular diseminada y tratamiento anticoagulante en pacientes graves con COVID-19. *Med Intensiva.* 2020. <https://doi.org/10.1016/j.medin.2020.06.006>.
- Lodigiani C, Iapichino G, Carenzo L y col; Humanitas COVID-19 Task Force. Venous and arterial thromboembolic complications in COVID-19 patients

- admitted to an academic hospital in Milan, Italy. *Thromb Res.* 2020 Jul;191:9-14.
17. Berger JS, Kunichoff D, Adhikari S y col. Prevalence and Outcomes of D-Dimer Elevation in Hospitalized Patients With COVID-19. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2020 Oct;40(10):2539-2547.
  18. Thachil J, Tang N, Gando S y col. ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19. *J Thromb Haemost.* 2020 May;18(5):1023-1026.
  19. Nopp S, Moik F, Jilma B, Pabinger I, Ay C. Risk of venous thromboembolism in patients with COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Res Pract Thromb Haemost.* 2020 Sep 25;4(7):1178-91.
  20. Nauka PC, Baron SW, Assa A y col. Utility of D-dimer in predicting venous thromboembolism in non-mechanically ventilated COVID-19 survivors. *Thromb Res.* 2021 Mar;199:82-84.
  21. Spyropoulos AC, Levy JH, Ageno W y col; Subcommittee on Perioperative, Critical Care Thrombosis, Haemostasis of the Scientific, Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Scientific and Standardization Committee communication: Clinical guidance on the diagnosis, prevention, and treatment of venous thromboembolism in hospitalized patients with COVID-19. *J Thromb Haemost.* 2020 Aug;18(8):1859-1865.
  22. Kogan AE, Mukharyamova KS, Bereznikova AV, Filatov VL, Koshkina EV, Bloshchitsyna MN, Katrukha AG. Monoclonal antibodies with equal specificity to D-dimer and high-molecular-weight fibrin degradation products. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2016 Jul;27(5):542-50.



**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.

# Prevalencia y persistencia de anticoagulante lúpico en pacientes con neumonía por COVID-19

## Prevalence and persistence of lupic anticoagulant in patients with COVID-19 pneumonia

Rivarola S, Duboscq C, Cantillo García A, Carreras M, Zapata L, Ávila Rueda J, Oliveros K, Sernaque C, Flegler N, Quarchioni M, Shanley C, Palmer S, Stemmelin G, Ceresetto JM.

*Hospital Británico de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina*

sofiarivarolacalderon@gmail.com

Fecha recepción: 13/12/2021  
Fecha aprobación: 23/12/2021

TRABAJO SELECCIONADO A PRESENTACIÓN ORAL CONGRESO CAHT 2021



ARTÍCULO ORIGINAL

HEMATOLOGÍA  
Volumen 25 n° 3: 45-52  
Septiembre - Diciembre 2021

**Palabras claves:** Coronavirus, trombosis, anticuerpos antifosfolípidicos, coagulopatía.

**Keywords:** Coronavirus, thrombosis, antiphospholipid antibody, coagulopathy.

### Resumen

La presencia de anticoagulante lúpico (AL) asociado al fenómeno de hipercoagulabilidad en los pacientes con neumonía por COVID-19 ha sido estudiada en la fase aguda de la enfermedad, presentándose en algunos reportes hasta en el 90%.

Diseñamos un estudio prospectivo para investigar la prevalencia de AL y su persistencia en pacientes con neumonía por COVID-19 internados en sala general y su asociación con otras variables que determinaban la gravedad del cuadro.

Analizamos 268 pacientes consecutivos que requirieron internación por COVID-19, divididos según presentarían AL positivo o negativo al ingreso. Los pacientes positivos recibieron tromboprolifaxis con enoxaparina 40 mg cada 12 horas por 30 días. La

prueba de AL fue repetida al mes y a los tres meses. De los 268 pacientes estudiados, 148 (55%) presentaron AL positivo. Los 50 de los 148 pacientes en los que se evaluó la presencia de anticuerpos anti cardiolipinas (aCL) y anticuerpo anti-beta 2 glicoproteínas (a $\beta$ 2GPI) IgG e IgM fueron negativos. En el análisis no pudimos comprobar que la presencia de AL se relacione de manera significativa con mayor enfermedad tromboembólica venosa (ETV). Luego del análisis multivariado comprobamos que los pacientes con AL positivo presentaban internaciones más prolongadas comparadas con el grupo negativo y que la mayoría de ellos eran de sexo masculino. Además, los pacientes AL positivo presentaron una evolución más tórpida así como mayor mortalidad, mayor necesidad de ingreso a unidad de terapia in-

tensiva (UTI), sin poder demostrar una significancia estadística, probablemente por la complejidad que presenta este tipo de pacientes y el bajo número de eventos presentados. El uso de tromboprolifaxis a dosis intermedia no se asoció a un aumento del sangrado mayor en nuestros pacientes. En el seguimiento a tres meses el 68,2% de los pacientes testeados negativizaron la prueba de AL. Los pacientes que permanecieron con AL positivo luego del alta no evidenciaron mayor incidencia de ETV ni de sangrado durante el seguimiento.

### Abstract

The presence of lupus anticoagulant (LAC) associated with this hypercoagulability phenomenon has been studied in the acute phase of the disease, appearing in some reports in up to 90% of patients with severe pneumonia.

We designed a prospective study to investigate the prevalence of LAC and its persistence in patients with COVID-19 pneumonia admitted to the hospital and its association with other variables that determine the severity of the condition.

We analyzed 268 consecutive patients who required hospitalization due to COVID-19, dividing them according to whether they presented positive or negative LAC. Patients who tested positive received thromboprophylaxis with enoxaparin 40 mg every 12 hours for 30 days. The LAC test was repeated at one and three months.

Of the total number of patients admitted to the study, 148 (55%) patients were AL (+). The presence of anti-cardiolipin antibodies and anti-beta 2 glycoprotein antibodies IgG and IgM was evaluated in 50 patients, and they were all negative. In the analysis, we could not verify that the presence of LAC is significantly related to venous thromboembolic disease (VTE). After the multivariate analysis, we verified that the patients with positive LA had longer hospitalizations compared to the negative group and that most of them were male. In addition, the positive LAC patients presented a more torpid evolution such as higher mortality and greater admission to the intensive care unit (ICU), without being able to demonstrate statistical significance, probably due to the complexity of this type of patient and the low number of events presented. The use of intermediate dose thromboprophylaxis was not associated with an increase in major bleeding in our patients.

At the three-month follow-up, 68.2% of the patients tested had the LAC test negative. The patients who remained with positive LAC after discharge did not show a higher incidence of VTE or bleeding during follow-up.

### Introducción

Los pacientes con COVID-19 han presentado un estado de hipercoagulabilidad evidenciado por los altos niveles de fibrinógeno, factor VIII y dímero D<sup>(1,2)</sup>. En esta patología se ha reportado una incidencia de ETV mayor a la observada en pacientes internados en unidades de cuidados críticos por otras patologías. Dada la alta prevalencia del estado protrombótico de esta enfermedad, varios investigadores estudiaron la presencia del síndrome antifosfolípídico (SAF)<sup>(3-4)</sup>.

Harzallah y colaboradores analizaron 56 pacientes con COVID-19 para anticuerpos antifosfolípidos (apl) y encontraron un 45% de AL positivo y un 10% aCL o aβ2GPI IgG o IgM positivo, de los cuales tres se asociaron con AL. Los títulos de aCL o aβ2GPI no fueron informados, no se proporcionaron detalles sobre si AL fue positivo en el sistema de prueba aPTT y/o dRVVT y no se mencionó la trombosis asociada<sup>(5)</sup>. En otro trabajo de investigación Bowles y colaboradores describieron 35 pacientes y detectaron 91% positivos para AL. Los anticuerpos aCL o aβ2GPI no se midieron y sólo dos pacientes tuvieron trombosis<sup>(6)</sup>. Helms y colaboradores demostraron AL en 57 pacientes con un evento trombótico durante su estadía en la UTI analizando sólo aquellos que presentaban aPTT prolongado. El AL se consideró positivo según el sistema de prueba dRVVT solamente. Observaron 88% de pacientes positivos para AL, pero aCL y aβ2GPI no se determinaron. En este estudio no se informó cuantos pacientes con AL presentaron trombosis<sup>(7)</sup>. Gendron N y colaboradores estudiaron 249 pacientes hospitalizados por neumonía, de los que 154 tenían infección COVID-19. Estos pacientes presentaron una prevalencia de AL de 60.9% mientras que en los pacientes con neumonía no COVID-19 el AL se presentó sólo en 23.7%. En esta población con AL positivo no se demostró asociación con ETV<sup>(8)</sup>. Gazzaruso C y colaboradores estudiaron 45 pacientes, de los cuales 21 (46%) presentaron AL, sin evidenciar relación con mortalidad ni requerimiento de ventilación mecánica<sup>(9)</sup>.

Si bien son numerosos los trabajos que demostraron

la presencia de AL durante la fase aguda de la enfermedad, pocos de ellos confirmaron su persistencia en el tiempo. Entre los estudios se puede mencionar el trabajo de Devreese K y colaboradores que estudiaron 31 pacientes con diagnóstico de COVID-19 que ingresaron a UTI, midieron AL al ingreso y al mes. De los 31 pacientes, 16 presentaron AL positivo, 2 fueron triple positivo. Nueve de diez pacientes re testeados al mes fueron negativos para AL. En 9 de los 31 pacientes evaluados se detectó ETV y 7 de ellos presentaron al menos 1 anticuerpo antifosfolipídico positivo<sup>(10)</sup>. Por otro lado, Vollmer O y colaboradores, observaron un 50% de trombosis en 79 pacientes con diagnóstico de COVID-19 y AL positivo y a los 6 meses 42 pacientes negativizaron el inhibidor<sup>(11)</sup>.

Si bien numerosos autores han reportado alta prevalencia de AL en pacientes con COVID-19 en fase aguda, el comportamiento de estos anticuerpos antifosfolipídicos, en esta patología difiere de lo reportado en otras enfermedades virales, donde la prevalencia de anticuerpos anticardiolipinas es superior al AL. No es claro el aumento del riesgo trombótico asociado a la presencia de AL aislado. Borghi M y colaboradores sugieren la hipótesis de que los anticuerpos antifosfolipídicos encontrados en los pacientes con COVID-19 difieren de los anticuerpos antifosfolipídicos del SAF. Esto podría explicar la falta de asociación entre los eventos trombóticos y la presencia de los anticuerpos antifosfolipídicos en los pacientes con diagnóstico de COVID-19<sup>(12)</sup>.

Se investigaron las recomendaciones internacionales acerca de la tromboprofilaxis para disminuir la incidencia de ETV en los pacientes con diagnóstico de COVID-19 internados y con AL positivo. Estos estudios demostraron mayor evidencia a favor del uso de profilaxis en dosis intermedia de heparina de bajo peso molecular (HBPM) y no reportaban un aumento en la incidencia de sangrado mayor<sup>(13-14,3)</sup>.

Los objetivos de este estudio son: a) analizar la incidencia de AL en pacientes con neumonía COVID-19 confirmados en fase aguda de la enfermedad, b) determinar la persistencia de AL al mes y a los tres meses, c) evaluar si la presencia de AL se relaciona con el desarrollo de ETV confirmada por estudio de imágenes, ingreso a UTI, mortalidad, sangrado mayor (definido según los criterios de ISTH), nivel de proteína C reactiva (PCR), valor de dímero-D y días de internación.

## Materiales y métodos

**Población.** Se incluyeron 268 pacientes consecutivos con diagnóstico de neumonía COVID-19 confirmado, que requirieron internación en el Hospital Británico de Buenos Aires entre junio y diciembre de 2020. Desde el ingreso a la sala todos los pacientes recibieron enoxaparina 40 mg/día; aquéllos que presentaban AL recibían enoxaparina 40 mg cada 12 horas (dosis intermedia) durante 30 días (profilaxis extendida).

Este estudio se realizó bajo las normas éticas que rigen la investigación en humanos de acuerdo con la ley Nacional de Protección de Datos Personales N° 25.326 (Ley de *Habeas Data*) y la Declaración de Helsinki en su última versión (Fortaleza 2013).

**Variables preanalíticas.** Se extrajo sangre en citrato 3,2% relación 1+9; se centrifugó dos veces a 3000 g por 10 minutos.

**Fase analítica.** Tiempo de protrombina (TP) tromboplastina de cerebro de conejo (PT-Fibrinogen HS Plus, Instrumentation Laboratory), tiempo de tromboplastina parcial activado (APTT-SP Instrumentation Laboratory) y tiempo de trombina (thrombin time, Instrumentation Laboratory) como estudio basal.

**Detección de anticoagulante lúpico.** De acuerdo con las normas de CLSI H-60<sup>(15)</sup>. Dos pruebas de tamificación: SCT-screen y dRVVT screen (Silica clotting time y dVVRT screen Instrumentation Laboratory). Ensayos de mezcla con pool de plasma normal (1 vol de PP + 1 vol PN) para ver si corrige. Se consideró no corrección si ICA > 11% (para APTT y SCT) e ICA >12 % para el Russell.

**Pruebas confirmatorias dependiente de fosfolípidos.** Ensayos confirmatorios para SCT y dRVVT. Se consideró positivo una razón normalizada *screen/confirm* >1,30 y una razón normalizada *screen/confirm* dRVVT >1,20. Para las razones se utiliza la media geométrica normal del valor de referencia calculado en 60 normales. El ajuste de los puntos de corte se realizó localmente y se confirmó por lote de reactivo. Se excluyeron todos los pacientes que mostraron niveles de anti Xa superiores a 0.35 U/ML.

**Determinación de dímero D.** Ensayo cuantitativo por inmunotubidimetría (HemosIL DD, Instrumentation Laboratory).

**Determinación de niveles anti Xa.** Ensayo cromogénico equipo específico (HemosIL Liquid Anti Xa, Instrumentation Laboratory con curva de calibración híbrida).

Todos los ensayos fueron realizados en un coagulómetro automatizado con detección foto óptica (ACL TOP 500, Instrumentation Laboratory).

**Determinación de anticardiolipinas y anti-beta 2 glicoproteínas.** Se determinaron anticardiolipinas IgG e IgM por ELISA (APHLIgG e IgM HRP ELISA de *Louisville APL diagnostic*, punto de corte 15 GPL y 15 GML) y anti-beta 2 glicoproteína por ELISA (LAPL anti-beta 2 GPI HRP ELISA de *Louisville APL diagnostics*, punto de corte IgG 5 U/mL).

Estadística. En el análisis estadístico univariado se usó para las variables categóricas la prueba de Chi-cuadrado y para las variables continuas la prueba de T. Para el estudio multivariado se realizó una regresión logística múltiple (statistix 7.0).

## Resultados

### Características generales y prevalencia de AL

Desde junio a diciembre de 2020 enrolamos 268 pacientes ingresados a la sala de clínica médica con diagnóstico de neumonía por COVID-19. Las características clínicas generales de los pacientes (n=268) se encuentran en la tabla 1 donde se detallan datos epidemiológicos comparando ambos grupos. De los 268 pacientes, 161 (60%) eran hombres. La media de edad de los pacientes fue 58 años +/- 17. En el grupo masculino 63,3% presentaron AL positivo versus 36,6% que fueron AL negativo (p < 0,001). En el análisis ajustado por múltiples variables se incluyó la variable de sexo, demostrando que esta enfermedad se presentaba más frecuentemente en hombres y

que éstos presentaban con mayor frecuencia test de AL positivo. (*Odds ratio* de 2,12, 95% IC 1,25-3,61; valor de p < 0,005).

En este estudio se evaluó la prevalencia de AL en pacientes internados en la sala de clínica médica, con diagnóstico de COVID-19 investigando sistemáticamente la presencia de AL al ingreso. De 268 pacientes admitidos en el estudio, 148 (55%) pacientes resultaron AL (+), un sólo paciente tenía SAF diagnosticado previamente y fue excluido del análisis.

En los 50 pacientes en los que se evaluó la presencia de aCL y aβ2GPI IgG e IgM fueron negativos. Sólo se realizó el ensayo de AL en los pacientes que presentaron al momento del estudio niveles de heparinemia menores a 0,35 antiXa/mL, para evitar falsos positivos.

Algunos autores sugieren que los niveles altos de PCR presentes en el paciente COVID-19 podrían originar un diagnóstico falso positivo de AL<sup>(16)</sup>. En el laboratorio hemos evaluado el comportamiento de nuestro sistema de detección/reactivos agregando *in vitro* diferentes concentraciones de PCR humana a un *pool* normal y los reactivos utilizados han mostrado no ser sensibles a la presencia de PCR (Figura 1) en concordancia con lo descrito también por otros autores<sup>(17)</sup>. Además, son numerosos los estudios que reportan pacientes COVID-19 AL negativo con PCR elevada. En definitiva, si bien algunos pacientes presentaron niveles elevados de PCR, consideramos que el diagnóstico de AL no se ve afectado por su presencia en nuestro sistema.

Tabla 1. Características generales

Pacientes COVID-19 (+) Análisis univariado			
	AL + N: 148 (55%)	AL- N: 120 (45%)	p
Edad	58 (17-91)	59 (17-92)	p: 0,559
Sexo			p: 0,001
Hombres	68,9 % (102)	49,2 % (59)	
Mujeres	31,1 % (46)	50,8 % (61)	
Dímero D (ng/mL)	1081 +/- 1000	1282 +/- 1020	p: 0,533
Sangrados	2,7 % (4)	1,7 % (2)	p: 0,568
Trombosis	4,7 % (7)	0,8 % (1)	p: 0,062
PCR (mg/L)	148 +/- 99	121 +/- 101	p: 0,520
UTI	23,6 % (34)	10 % (12)	p: 0,003
Días de internación	9 (4-72)	7 (2-56)	p: 0,002
Mortalidad	8,8 % (13)	2,5 % (3)	P: 0,030

En conjunto, los pacientes con COVID-19 presentaron niveles elevados de dímero D (media de los 268 ptes; 1181,5 ng FEU/mL). No se observaron diferencias significativas entre el nivel de dímero D en el grupo AL (+) (DD 1081 +/- 100 ng FEU/mL) y del grupo AL (-) (DD 1282 +/-102 ng FEU/mL), con un valor de  $p = 0,533$ .

**Seguimiento a 3 meses**

De los 148 pacientes AL positivo, continuaron en seguimiento 136 pacientes, (13 pacientes fallecieron durante la internación). De ellos sólo 68 se realizaron nuevamente la prueba de AL al mes, 43 negatizaron el ensayo (63,2%) y 25 (36.7%) continuaron siendo positivos. A los tres meses 20 de 25 pacientes continuaban siendo positivos y cinco pacientes no concurrieron al control del tercer mes. De los 20 pacientes con AL persistentemente positivo, ninguno

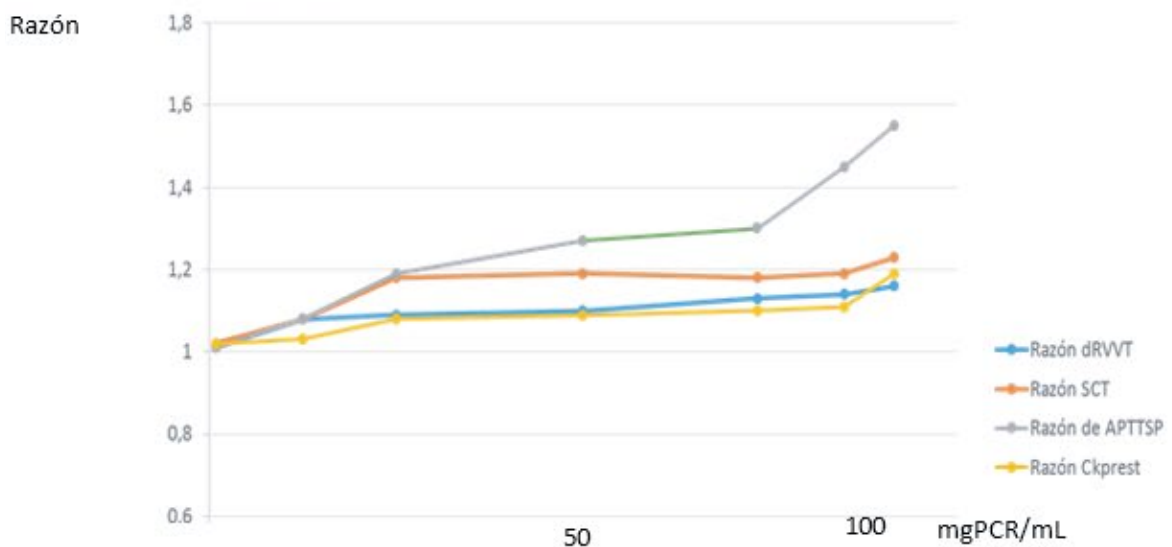
presentó ETV durante los tres meses evaluados. Este subgrupo de paciente continuó con profilaxis de AAS 100 mg/día y controles mensuales.

**Impacto clínico de los pacientes AL positivo**

En este estudio se buscó analizar la relación de AL positivo con diferentes variables como mortalidad, ETV, sangrados, ingreso a UTI, días de internación, valor promedio de dímero D, edad, sexo y PCR. Para el análisis de estos parámetros se llevó a cabo un estudio multivariado (prueba de Hosmer-Lemeshow de 12,67;  $p= 0,123$ ). Los valores obtenidos fueron plasmados en la tabla 2.

Ocho pacientes del total de 268 (2.98%) desarrollaron un episodio de ETV y ninguno eventos arteriales. De los 8 el 50% presentó tromboembolismo de pulmón (TEP) y el resto trombosis venosa profunda (TVP) de miembros inferiores. En siete de los

**Figura 1.** Efecto de PCR agregado in vitro



**Tabla 2.** Resultado del análisis multivariado

	OR	95% IC	p
<b>Edad</b>	0,99	0,98-1,01	0,267
<b>Sexo</b>	2,12	1,25-3,61	0,005
<b>Dímero D</b>	1	-	0,076
<b>Sangrado</b>	0,42	0,05-3,5	0,423
<b>UTI</b>	1,23	0,49-3,09	0,658
<b>Días de internación</b>	1,07	1,02-1,12	0,008
<b>Mortalidad</b>	3,54	0,63-19,98	0,150
<b>ETV</b>	1,42	0,13-15,54	0,773

episodios de ETV el AL fue positivo (4,7% de 148 pacientes) comparado con un solo caso de los pacientes AL negativo (0,8%)  $p=0,062$ .

Por el análisis multivariado se observó que la ETV en AL positivo no presenta diferencia significativa comparada con la población AL negativa, probablemente por la baja incidencia de eventos tromboembólicos en la población estudiada. (4,7% versus 0,8%, *odds ratio* de 1,42, 95% IC 0,13-15,52; valor de  $p=0,773$ ).

De los 268 pacientes, 17,16% requirieron ingreso a UTI para sostén respiratorio. La población con AL positivo requirió un mayor ingreso a unidad de cuidados críticos, 34 de 148 (23,6%) comparado con 12 de los 120 pacientes AL negativo (10%), siendo este resultado estadísticamente significativo en el análisis univariado,  $p<0,003$ , a diferencia del multivariado donde no presenta diferencia significativa (*odds ratio* de 1,23, 95% IC 0,49-3,09; valor de  $p=0,658$ ).

Presentaron sangrado mayor 6 pacientes, de los que 5 estaban anticoagulados por patología preexistente. De los 6 pacientes que presentaron sangrado mayor, tres pacientes estaban anticoagulados con antagonistas de la vitamina K (AVK) previo a la internación, 2 con diagnóstico de fibrilación auricular (FA) y 1 por foramen oval permeable asociado a accidente cerebro vascular (ACV). Otros 2 pacientes habían desarrollado previamente TVP y estaban anticoagulados con heparina. Un solo paciente recibía profilaxis con enoxaparina 40 mg/día y era AL negativo. La incidencia de sangrado no fue diferente entre los pacientes AL positivo y negativo (2,7% versus 1,7% respectivamente,  $p=0,568$ ).

El análisis multivariado tampoco mostró diferencia significativa en el sangrado mayor entre los grupos que recibieron trombo profilaxis doble y extendida con respecto a los que recibieron dosis estándar. (2,7% versus 1,7%, ajuste de *odds ratio* de 0,42, 95% IC 0,05-3,5; valor de  $p=0,423$ ).

Del total de la muestra 16 pacientes (5,97%) fallecieron. De ellos 13 eran AL (+) y 3 eran AL (-), (8,8% versus 2,5% respectivamente,  $p<0,03$ ).

La mortalidad evaluada en este estudio fue de 5,97%, ocurriendo un mayor número de eventos en el grupo AL positivo, sin diferencias significativas en el estudio por ajuste de multivariadas a diferencia del análisis univariado. (8,8% versus 2,5%, *odds ratio* de 3,54, 95% IC 0,63-19,98;  $p=0,150$ ).

La mediana de días de internación en el grupo AL

positivo fue de 9 días (4-72) y de 7 (2-56) en el grupo AL negativo con un valor de  $p<0,002$ . Evidenciamos que el grupo AL positivo presentó internaciones más prologadas respecto al grupo AL negativo, con una diferencia estadística significativa en el ajuste por variables. (*Odds ratio* de 1,07, 95% IC 1,02-1,12; valor de  $p<0,008$ ).

### Discusión

La incidencia de AL en la fase aguda del COVID-19 de nuestra población es similar a la informada por otros autores<sup>(18,3,1)</sup>.

El estudio de AL en los pacientes con COVID es difícil por la metodología complicada de las pruebas de coagulación dependientes de fosfolípidos que son propensas a interferencias<sup>(21)</sup>. En nuestro estudio se ha tenido especial cuidado en hacer el diagnóstico cuando el paciente tenía un nivel de heparinemia menor a 0.35 anti Xa/mL, muy por debajo del nivel permitido por los reactivos utilizados<sup>(10)</sup>. También previo al estudio se investigó el comportamiento de los reactivos utilizados con altos niveles de PCR, observándose que la misma no interfería. Es decir que se han tomado los recaudos necesarios para que el diagnóstico de AL sea confiable.

En este análisis no hemos podido comprobar que la presencia de AL se relacione con un incremento significativo de ETV, posiblemente porque estos pacientes recibieron una tromboprofilaxis en dosis intermedia y extendida. La falta de correlación con la ETV podría deberse también a que los anticuerpos desarrollados en COVID-19 son contra distintos epítomos de los desarrollados en SAF<sup>(11,14,8)</sup>.

En la subpoblación donde se testearon los tres apl hemos encontrado que sólo se presenta AL positivo en forma aislada, con aCL y a $\beta$ 2GPI negativas. La negatividad de los aCL y a $\beta$ 2GPI en los pacientes positivos para AL parecería ser característico de esta patología, lo cual concordaría con lo descrito para otros agentes infecciosos, señalados como desencadenantes de la formación de AL por el mimetismo molecular entre estructuras de bacterias o virus y aminoácidos derivados de  $\beta$ 2GPI. Algunos estudios demostraron que la presencia de AL con propiedades similares a las que se encuentra en pacientes con SAF, puede ser inducida por inmunización con virus y bacterias. Sin embargo, la importancia clínica de este hallazgo permanece desconocida. Estos AL inducidos por infecciones son transitorios en algunos

pacientes, mientras que en otros individuos persisten y pueden asociarse con trombosis<sup>(19-20)</sup>.

Otro punto planteado por numerosos autores es la falta de confirmación del AL a los tres meses. Los resultados positivos de AL, aCL o aβ2GPI deben realizarse en una segunda ocasión, después de 12 semanas para confirmar su persistencia. El objetivo de la repetición de la muestra es evitar el sobre diagnóstico de los pacientes con SAF que presentaban un AL transitorio<sup>(21)</sup>.

En nuestra población el 68,2% de los pacientes con AL positivo presentan un estudio de AL negativo luego de resuelto el cuadro agudo de COVID-19 en el seguimiento. Este patrón pareciera obedecer a una respuesta inflamatoria transitoria<sup>(1-7)</sup>.

El grupo de pacientes con AL positivo presenta mayor mortalidad, mayor ingreso a UTI e internaciones más prolongadas, en concordancia con algunos trabajos publicados<sup>(7,20)</sup>. Cuando realizamos el análisis por variables múltiples sólo los días de internación mostró una diferencia significativa entre el grupo AL positivo y negativo, lo que podría estar relacionada con el bajo número de eventos de la población. El uso de profilaxis doble y extendida (enoxaparina

40 mg cada 12 horas por 30 días) no demostró evidencia de sangrado mayor en nuestros pacientes, tal como lo demuestran algunos autores, quienes informan que la profilaxis doble y extendida no aumenta la incidencia de sangrado mayor a diferencia de los pacientes que reciben anticoagulación, donde el fenómeno se presenta más frecuentemente<sup>(13,22-23)</sup>.

### Conclusión

Si bien los pacientes con COVID-19 al inicio de la infección presentan una alta incidencia de AL positivo, el mismo parecería no ser persistente en el tiempo en la mayoría de los pacientes. Los portadores de este marcador fueron principalmente de sexo masculino y presentaron mayor cantidad de días de internación total. Si bien, el análisis univariado mostró mayor necesidad de pase a UTI y mayor mortalidad en los pacientes AL positivos, esta diferencia no fue estadísticamente significativa en el análisis multivariado dado el tamaño muestral y el bajo número de eventos en la población evaluada. La prevalencia de ETV fue de 2,98%, menor a la reportada en la bibliografía, quizás por la profilaxis utilizada, sin evidencia de sangrado mayor con esta conducta.

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

### Bibliografía

1. Taha M, Samavati L. Antiphospholipid antibodies in COVID-19: a meta-analysis and systematic review. *RMD Open* [Internet]. 2021 May 6;7(2):e001580. Available from: <https://rmdopen.bmj.com/lookup/doi/10.1136/rmdopen-2021-001580>
2. Fan BE, Ng J, Chan SSW, Christopher D, Tso ACY, Ling LM et al. COVID-19 associated coagulopathy in critically ill patients: A hypercoagulable state demonstrated by parameters of haemostasis and clot waveform analysis. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis* [Internet]. 2021 Apr 24;51(3):663–74. Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s11239-020-02318-x>
3. Tang N. Response to “Lupus anticoagulant is frequent in patients with Covid-19” (JTH-2020-00483). *Journal of Thrombosis and Haemostasis* [Internet]. 2020 Aug 25;18(8):2065–6. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jth.14890>
4. Xiao M, Zhang Y, Zhang S, Qin X, Xia P, Cao W et al. Antiphospholipid Antibodies in Critically Ill Patients With COVID-19. *Arthritis & Rheumatology* [Internet]. 2020 Dec 7;72(12):1998–2004. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/art.41425>
5. Harzallah I, Debliquis A, Drénou B. Lupus anticoagulant is frequent in patients with Covid-19. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* [Internet]. 2020 Aug 11;18(8):2064–5. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jth.14867>
6. Bowles L, Platton S, Yartey N, Dave M, Lee K, Hart DP et al. Lupus Anticoagulant and Abnormal Coagulation Tests in Patients with Covid-19. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 2020 Jul 16;383(3):288–90. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMc2013656>
7. Helms J, Tacquard C, Severac F, Leonard-Lorant I, Ohana M, Delabranche X et al. High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study. *Intensive Care Medicine* [Internet]. 2020 Jun 4;46(6):1089–98. Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s00134-020-06062-x>
8. Gendron N, Dragon-Durey M, Chocron R, Darnige L, Jourdi G, Philippe A et al. Lupus Anticoagulant Single Positivity During the Acute Phase of COVID-19 Is Not Associated With Venous Thromboembolism or In-Hospital Mortality. *Arthritis & Rheumatology* [Internet].

- 2021 Nov 22;73(11):1976–85. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/art.41777>
9. Gazzaruso C, Carlo Stella N, Mariani G, Nai C, Coppola A, Naldani D et al. High prevalence of antinuclear antibodies and lupus anticoagulant in patients hospitalized for SARS-CoV2 pneumonia. *Clinical Rheumatology* [Internet]. 2020 Jul 27;39(7):2095–7. Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s10067-020-05180-7>
  10. Devreese KMJ, Linskens EA, Benoit D, Peperstraete H. Antiphospholipid antibodies in patients with COVID-19: A relevant observation? *Journal of Thrombosis and Haemostasis* [Internet]. 2020 Sep 23;18(9):2191–201. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jth.14994>
  11. Vollmer O, Tacquard C, Dieudonné Y, Nespolo B, Sattler L, Grunebaum L et al. Follow-up of COVID-19 patients: LA is transient but other aPLs are persistent. *Autoimmunity Reviews* [Internet]. 2021 Jun;20(6):102822. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S156899722100094X>
  12. Borghi MO, Beltagy A, Garrafa E, Curreli D, Cecchini G, Bodio C et al. Anti-Phospholipid Antibodies in COVID-19 Are Different From Those Detectable in the Anti-Phospholipid Syndrome. *Frontiers in Immunology* [Internet]. 2020 Oct 15;11. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2020.584241/full>
  13. Kaptein FHJ, Stals MAM, Huisman MV, Klok FA. Prophylaxis and treatment of COVID-19 related venous thromboembolism. *Postgraduate Medicine* [Internet]. 2021 Aug 6;133(sup1):27–35. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00325481.2021.1891788>
  14. Paolisso P, Bergamaschi L, D'Angelo EC, Donati F, Giannella M, Tedeschi S et al. Preliminary Experience With Low Molecular Weight Heparin Strategy in COVID-19 Patients. *Frontiers in Pharmacology* [Internet]. 2020 Aug 6;11. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2020.01124/full>
  15. PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. Laboratory Testing for the Lupus Anticoagulant; Approved Guideline. CLSI document H60-A Wayne. CLSI H-60 CLSI. 2014;
  16. Schouwers SME, Delanghe JR, Devreese KMJ. Lupus Anticoagulant (LAC) testing in patients with inflammatory status: Does C-reactive protein interfere with LAC test results? *Thrombosis Research* [Internet]. 2010 Jan;125(1):102–4. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0049384809003892>
  17. Scazzioia A, Adamczuk Y, Annetta E, Bertolaccini M, Blanco A, Duboscq C, Mainetti G, Martinuzzo M, Remotti L & Rossi E. Aspectos destacados del Taller de Laboratorio de Anticuerpos Antifosfolípidos. *Revista Hematología* [Internet]. 2019;22(3), 326–347. Available from: <https://revistahematologia.com.ar/index.php/Revista/article/view/48>
  18. Jimenez-Guiu X, Huici-Sánchez M, Rmera-Villegas A, Izquierdo-Miranda A, Sancho-Cerro A, Vila-Coll R. Deep vein thrombosis in noncritically ill patients with coronavirus disease 2019 pneumonia: deep vein thrombosis in nonintensive care unit patients. *Journal of Vascular Surgery: Venous and Lymphatic Disorders* [Internet]. 2021 May;9(3):592–6. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213333X20304662>
  19. Gkrouzman E, Barbhayia M, Erkan D, Lockshin MD. Reality Check on Antiphospholipid Antibodies in COVID-19–Associated Coagulopathy. *Arthritis & Rheumatology* [Internet]. 2021 Jan 5;73(1):173–4. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/art.41472>
  20. Najim M, Rahhal A, Khir F, Aljundi AH, Abu Yousef S, Ibrahim F et al. Prevalence and clinical significance of antiphospholipid antibodies in patients with coronavirus disease 2019 admitted to intensive care units: a prospective observational study. *Rheumatology International* [Internet]. 2021 Jul 5;41(7):1243–52. Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s00296-021-04875-7>
  21. Mantovani Cardoso E, Hundal J, Feterman D, Magaldi J. Concomitant new diagnosis of systemic lupus erythematosus and COVID-19 with possible antiphospholipid syndrome. Just a coincidence? A case report and review of intertwining pathophysiology. *Clinical Rheumatology* [Internet]. 2020 Sep 28;39(9):2811–5. Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s10067-020-05310-1>
  22. Mattioli M, Benfaremo D, Mancini M, Mucci L, Mainquà P, Polenta A et al. Safety of intermediate dose of low molecular weight heparin in COVID-19 patients. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis* [Internet]. 2021 Feb 13;51(2):286–92. Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s11239-020-02243-z>
  23. Atallah B, Sadik ZG, Salem N, el Nekidy WS, Almahmeed W, Park WM et al. The impact of protocol-based high-intensity pharmacological thromboprophylaxis on thrombotic events in critically ill COVID-19 patients. *Anaesthesia* [Internet]. 2021 Mar 5;76(3):327–35. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/anae.15300>



**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 pronóstico de las anomalías genéticas en mieloma múltiple

## Prognostic value of genetic abnormalities in multiple myeloma

Flavia Stella<sup>1,2</sup>, Leticia Giselle Guash<sup>1</sup>, Estela Pedrazzini<sup>1,3</sup>, Irma Slavutsky<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Genética de Neoplasias Linfoides, Instituto de Medicina Experimental, CONICET-Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, Argentina

<sup>2</sup> Área de Genética, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Posadas, Buenos Aires, Argentina

<sup>3</sup> Departamento Ciencias Básicas y Experimentales, Universidad del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (UNNOBA), Buenos Aires, Argentina

islavutsky@hematologia.anm.edu.ar

Fecha recepción: 30/11/2021

Fecha aprobación: 15/12/2021



ARTÍCULO  
DE REVISIÓN

HEMATOLOGÍA  
Volumen 25 n° 3: 53-63  
Septiembre - Diciembre 2021

**Palabras claves:** mieloma múltiple, citogenética, FISH.

**Keywords:** multiple myeloma, cytogenetics, FISH.

### Resumen

El mieloma múltiple (MM) es una neoplasia B post centro germinal caracterizada por la proliferación clonal de células plasmáticas en la médula ósea y la detección de una inmunoglobulina monoclonal en suero u orina, la proteína M. 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. A nivel citogenético se observan anomalías primarias, directamente relacionadas con la patogénesis de la enfermedad, y secundarias, que incluyen ganancias y pérdidas de material genético, que aportan información de valor pronóstico adicional. Las anomalías primarias permiten dividir a los pacientes en dos grandes grupos: hiperdiploides, con ganancia de cromosomas, considerados de buen pronóstico, y no-hiperdiploides, con número modal variable, asociados a mala evolución clínica. Las anomalías secundarias incluyen: delección 13q14/monosomía del cromoso-

ma 13, delección 17p13, alteraciones del cromosoma 1, específicamente ganancia/amplificación del brazo largo (1q21) y delecciones del brazo corto (1p), así como también rearrreglos del gen MYC (8q24). Un nuevo subgrupo lo constituyen los MM doble hit que incluyen pacientes con: a) inactivación bialélica de TP53 (delección en un alelo y mutación en el otro) y, b) estadio clínico ISS III con amplificación de 1q21 ( $\geq 4$  copias), asociados a muy mal pronóstico. Una anomalía de reciente descripción es la inactivación bialélica del gen BCMA (*B cell maturation antigen*) (16p13.13), que constituye un mecanismo de recaída/resistencia al tratamiento anti-BCMA CAR T-cells, siendo importante su detección en pacientes pasibles de ser incorporados a estos esquemas terapéuticos. 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.

## Summary

Multiple myeloma (MM) is a clonal B cell neoplasia characterized by the accumulation of malignant plasma cells within the bone marrow and the presence of a monoclonal immunoglobulin in the serum and/or urine. MM originates from a multi-step transformation process with progressive accumulations of genetic events that favor the proliferation and expansion of the malignant clone. The disease is characterized by the presence of multiple structural and numerical genetic alterations with different prognostic significance. Chromosome alterations can be divided in primary, related to the pathogenesis of the disease, and secondary, that provide additional prognostic information. Primary alterations permit classify patients in two groups: hyperdiploid, with chromosome gains, considered of favorable prognosis, and non-hyperdiploid, with variable modal number and associated to poor clinical evolution. The secondary abnormalities include: 13q14 deletion/monosomy of chromosome 13, deletion of 17p13, chromosome 1 alterations, particularly gains/amplifications of 1q21 and 1p deletions, and structural rearrangements of *MYC* gen (8q24). In addition, there is a new subgroup named double hit MM that includes patients with: a) biallelic inactivation of *TP53* gene (deletion in one allele and mutation in the other) and, b) clinical stage ISS III and 1q21 amplification ( $\geq 4$  copies), associated to very poor prognosis. The biallelic inactivation of the *BCMA* (*B cell maturation antigen*) gene (16p13.13) is a new alteration, associated to relapse/resistance to the anti-BCMA CAR T-cells treatment, which detection is of relevance, particularly in those patients eligible for these therapeutic protocols. The deepening of the biologic characterization of MM results of importance in the context of translational medicine, contributing to a better diagnosis and/or prognosis, and providing information for new therapeutic approaches.

## Introducción

El MM es la segunda neoplasia hematológica en frecuencia en adultos del mundo occidental<sup>(1)</sup>. Afecta más comúnmente a individuos con edad media al diagnóstico de 65-70 años; es más frecuente en hombres que en mujeres, y presenta diferencias en su incidencia entre regiones geográficas y grupos étnicos<sup>(2)</sup>. Es una enfermedad heterogénea en cuanto a su presentación clínica, respuesta a la terapia y

tiempo de sobrevida (SV)<sup>(3)</sup>. A nivel genético es una patología compleja que sufre un proceso de transformación de múltiples pasos con acumulación progresiva de eventos que favorecen la proliferación y expansión del clon maligno<sup>(3-6)</sup>. El estudio de las 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, siendo primordiales al momento del diagnóstico, en la progresión/recaída de la enfermedad, así como en la evaluación de la respuesta al tratamiento<sup>(4,7)</sup>.

El análisis citogenético presenta limitaciones debido al bajo índice de proliferación de las células plasmáticas (CP), permitiendo detectar alteraciones cromosómicas en el 30-40% de los casos<sup>(4)</sup>. Un trabajo reciente<sup>(8)</sup> muestra el valor pronóstico independiente del cariotipo convencional en la detección de pacientes de alto riesgo, rescatando la importancia de esta metodología en el estudio del MM. Su complementación con la técnica de FISH (*Fluorescence in situ hybridization*) permitió aumentar considerablemente la detección de alteraciones, llegando aproximadamente al 80% de los casos, siendo de importancia dada la presencia de numerosas anomalías crípticas.

Las alteraciones cromosómicas incluyen anomalías primarias, directamente relacionadas con la patogénesis de la enfermedad, y secundarias, particularmente ganancias y pérdidas de material genético, que aportan información pronóstica adicional<sup>(7,9)</sup> y que, en conjunto, han permitido establecer diferentes grupos de riesgo. Las anomalías primarias permiten dividir a los MM en dos grandes grupos: hiperdiploides (42-45% de los casos) y no-hiperdiploides (35-40%). Asimismo, se observa un 10-15% de pacientes con alteraciones combinadas (hiperdiploidía y t14q32) y un 5-10% que presenta anomalías variables, cuyo comportamiento clínico es heterogéneo<sup>(10)</sup>. Recientemente, se ha identificado un nuevo subgrupo con cariotipo tetraploide (4n) de muy mal pronóstico (6% de los MM al diagnóstico), asociados a mayor infiltración de CP en la médula ósea (MO) y aumento de anomalías de alto riesgo por FISH<sup>(11)</sup>. Asimismo, el MM se caracteriza por una alta heterogeneidad clonal, aún en estadios iniciales de la enfermedad, con diferentes patrones que van desde la estabilidad clonal a la presencia de multiclonalidad<sup>(5,6,12)</sup>, resultando importante su evaluación dada sus implicancias a nivel del tratamiento.

**Anomalías primarias**

Los MM hiperdiploides presentan entre 48 y 74 cromosomas y se caracterizan por mostrar múltiples trisomías, preferencialmente de los cromosomas impares 3, 5, 9, 11, 15, 19 y/o 21<sup>(4,12)</sup> (Figura 1a). Se manifiestan en individuos de mayor edad y se asocian a lesiones óseas y pronóstico favorable, no siendo claro el mecanismo subyacente en su desarrollo. No todas las trisomías tienen la misma frecuencia, siendo la más común la trisomía 9 seguida por los cromosomas 15 y 19, y, en menor frecuencia, la trisomía 17<sup>(13)</sup>. Kumar y col.<sup>(14)</sup> observaron una atenuación del impacto adverso de las alteraciones de alto riesgo por parte de las trisomías, mientras que Chretien y col.<sup>(13)</sup> detectaron que las trisomías 3 y 5 mejoran significativamente el pronóstico de los pacientes, presentando un rol protector en casos con t(4;14) y del(17)(p13), en tanto que la trisomía 21 lo empeora. Estos datos llevaron a la revisión y modificación del riesgo citogenético determinando el desarrollo de un nuevo índice pronóstico que incluye a las trisomías<sup>(15,16)</sup>.

También se observó mejor pronóstico en los pacientes con hiperdiploidías superiores a 50 cromosomas respecto de aquellos con hiperdiploidías entre 47-50 cromosomas. Otros trabajos<sup>(17,18)</sup> indican que la presencia de alteraciones de alto riesgo en pacientes con MM hiperdiploide impacta negativamente en el pronóstico de los mismos.

Por su parte, los MM no-hiperdiploides presentan un número modal variable, desde hipodiploide hasta pseudotetraploide (Figura 1b). Constituyen un grupo heterogéneo, con numerosos subtipos moleculares asociados a translocaciones recurrentes que involucran al gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (*IGH*), ubicado en 14q32, y cinco diferentes oncogenes: *FGFR3-MMSET* (4p16), *CCND3* (6p21), *CCND1* (11q13), *MAF* (16q23) y *MAFB* (20q12), con implicancias pronósticas<sup>(10,19)</sup> (Tabla 1). En menor frecuencia se observan otras translocaciones del cromosoma 14, entre ellas la t(6;14)(p25;q32) que involucra al gen *IRF4* (*Interferon Regulatory Factor 4*). Todas ellas determinan la

**Figura 1.** Cariotipos de pacientes con MM. **a)** cariotipo hiperdiploide; **b)** cariotipo no-hiperdiploide.



**Tabla 1.** Subgrupos de alteraciones citogenéticas en MM no-hiperdiploide

Subgrupo	Genes involucrados	Frecuencia (%)
Rearreglos de ciclinas		
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
Rearreglos de <i>MAF</i>		
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

desregulación de *ciclinas D*, que lleva a la activación del ciclo celular y aporta ventajas selectivas a los subclones que las presentan<sup>(20)</sup>. translocaciones del cromosoma 14, entre ellas la t(6;14)(p25;q32) que involucra al gen *IRF4* (*Interferon Regulatory Factor 4*). Todas ellas determinan la desregulación de *ciclinas D*, que lleva a la activación del ciclo celular y aporta ventajas selectivas a los subclones que las presentan<sup>(20)</sup>.

En lo que respecta a las translocaciones que involucran a los **genes de ciclinas** (*CCND*), la más frecuente es la t(11;14)(q13;q32), observada en el 15-20% de los pacientes al diagnóstico, que determina la sobreexpresión de *CCND1*<sup>(4,10)</sup>. Puede detectarse en MGUS (*monoclonal gammopathy of undetermined significance*) y presenta alta incidencia en la leucemia de células plasmáticas (LCP), tanto primaria como secundaria (50-60% de los casos)<sup>(21)</sup>. Tiene características biológicas y clínicas distintivas, está asociada con enfermedad hipo-secretoria o no-secretoria, IgD o IgM, morfología linfoplasmocítica o de pequeñas CP maduras, cadena liviana lambda, expresión aumentada de CD20, asociada a mejor SV global y libre de progresión, y pérdida de expresión de CD56<sup>(21-25)</sup>. Estos pacientes muestran aumento de la expresión de la proteína antiapoptótica BCL-2 y disminución de las proapoptóticas MCL-1/BCL-XL<sup>(26)</sup>, lo que los hace susceptibles al tratamiento con venetoclax, un inhibidor de BCL-2<sup>(27)</sup>. Si bien originalmente esta translocación ha sido asociada con un riesgo estándar, estudios recientes muestran peor evolución respecto de los casos con cariotipo y FISH normal y mejor respuesta que los pacientes con alteraciones de alto riesgo<sup>(28,29)</sup>. Las otras dos translocaciones que involucran genes de ciclinas son t(6;14)(p21;q32) (*CCND3*) y t(12;14)(p13;q32) (*CCND2*), de muy baja frecuencia (2% y <1%, respectivamente), y con escasa información clínica<sup>(20)</sup>.

La **t(4;14)(p16.3;q32)** es la segunda translocación recíproca en frecuencia en los pacientes con MM, observada en aproximadamente el 15% de los casos<sup>(30)</sup>, asociada a IgA y cadena liviana lambda. Es una translocación críptica que debe ser evaluada mediante FISH. Determina la yuxtaposición de dos oncogenes: *MMSET* (*multiple myeloma SET domain*) y *FGFR3* (*fibroblast growth factor receptor 3*), ubicados en 4p16.3, con el gen *IGH*. *MMSET* permanece en el derivado 4 y se encuentra sobreexpresado en el

total de casos, en tanto que la expresión del receptor de tirosina quinasa *FGFR3* se manifiesta en el 75% de los pacientes debido a la pérdida del derivado 14 (25% de los casos con esta translocación)<sup>(31-33)</sup>. *MMSET* codifica para una histona metiltransferasa con un rol central en la patogénesis del MM, asociada a progresión tumoral e inestabilidad genómica<sup>(33-35)</sup>. Por el contrario, diferentes estudios demostraron que la expresión de *FGFR3* no tiene impacto significativo en la SV de los pacientes<sup>(32,34)</sup>, en tanto que un análisis reciente revela que los casos sin t(4;14) pero con un perfil de expresión génica *MMSET* tienen un pronóstico similar a aquéllos que presentan la translocación<sup>(35)</sup>. Los pacientes con esta anomalía constituyen un grupo heterogéneo en cuanto a su evolución clínica<sup>(37)</sup>, lo cual estaría relacionado a la presencia de distintos transcritos de *MMSET*<sup>(32,33)</sup>, que impactarían de manera diferencial en la evolución clínica de la enfermedad<sup>(38)</sup>, así como a la coexistencia de otras alteraciones capaces de modular el pronóstico de esta translocación, como se evidencia en el nuevo índice pronóstico recientemente establecido<sup>(15,16)</sup>. Particularmente, la t(4;14) con coexistencia de alteraciones del cromosoma 1 y/o trisomía 21 presenta alto riesgo citogenético (29% de los casos)<sup>(39)</sup>, en tanto que aquéllos con t(4;14) y trisomía 5 se asocian a un mejor pronóstico.

Las translocaciones que involucran a los **genes MAF** (*Musculoaponeurotic fibrosarcoma*) son menos frecuentes, están asociadas al isotipo IgA y se encuentran relacionadas a pronóstico adverso<sup>(10)</sup>. Ellas incluyen la t(14;16)(q32;q23) (5% de los casos) y la t(14;20)(q32;q11) (2%) que yuxtaponen *IGH* con los oncogenes *MAF* y *MAFB*, respectivamente<sup>(4,10)</sup>; ambas son translocaciones crípticas que deben detectarse mediante FISH. Dichos genes son factores de transcripción de la familia bZIP (*Basic leucine zipper*), que proviene de la superfamilia AP-1, y tiene funciones de transactivación<sup>(40-42)</sup>. Estas translocaciones determinan el aumento de expresión de los genes *MAF*, que lleva a una sobre-expresión de *CCND2*, promoviendo la proliferación celular y afectando la regulación de la transición G1/S del ciclo celular. Asimismo, generan aumento de la expresión de la integrina  $\beta 7$  que promueve la adhesión de las células de MM con las células estromales de la MO, fenómeno que se asocia con el aumento de la secreción de *VEGF* (*Vascular Endothelial Grow-*

*th Factor*), importante en la SV de las células mielomatosas, y relacionado a resistencia a la apoptosis<sup>(43)</sup>. Estudios de microarrays muestran un perfil de expresión génica similar para los genes *MAF* y *MAFB*, sustentando un camino de señalización común para ambos<sup>(44)</sup>. Los puntos de ruptura de la t(14;16) se producen en el último intrón del gen supresor tumoral *WWOX* (*WW domain containing oxidoreductase*), centromérico a *MAF*, donde se encuentra el sitio frágil FRA16D, generando su disrupción y activación por parte del *enhancer* de *IGH*<sup>(45,46)</sup>. Estos pacientes presentan baja expresión de CD56, aumento de la expresión de CD20 y alteraciones cromosómicas en el cariotipo<sup>(47)</sup>. Un trabajo reciente<sup>(48)</sup> no observa diferencias en la media de SV entre los pacientes portadores de la t(14;16) y aquéllos que no la tenían, señalando un interrogante sobre su significado pronóstico. Con respecto a la t(14,20), resulta interesante mencionar que su presencia en MGUS y MM indolente se asocia a enfermedad estable, por lo que se sugiere que la misma no sería responsable del mal pronóstico observado en los pacientes con MM, requiriendo eventos adicionales para la progresión de la enfermedad<sup>(10,19,49)</sup>.

### Alteraciones secundarias

Las mismas incluyen: deleción 13q14, del17p13, ganancia/amplificación de 1q21 y del1p, y translocaciones que involucran al oncogén *MYC* (*Myelocytomatosis*) (8q24)<sup>(1,14,22)</sup>.

La **del13q14** es una de las anomalías más comunes (45-50% de los casos)<sup>(4)</sup>; involucra al gen supresor de tumor *RBI* (*Retinoblastoma*), regulador negativo del ciclo celular. Se la detecta también en MGUS, lo que sugeriría un rol primario en la oncogénesis temprana<sup>(50)</sup>. Aproximadamente el 85% de los pacientes presenta monosomía 13, mientras que en el 15% restante se producen deleciones intersticiales<sup>(51)</sup>. Presenta un alto nivel de asociación con las translocaciones que involucran *IGH* (84%), llegando al 90% de los casos que tienen la t(4;14)(p16;q32)<sup>(4)</sup>. Si bien durante mucho tiempo se la consideró un marcador de pronóstico adverso, actualmente se sabe que su detección indica la presencia de hipodiploidía o translocaciones *IGH*, resultando un marcador molecular de MM no-hiperdiploide<sup>(19)</sup>. Su detección en metafase se asocia a mayor proliferación y masa tumoral<sup>(51,52)</sup>. Un trabajo reciente<sup>(53)</sup> encuentra efectos diferentes sobre la SV global y la progresión al analizar

por separado los pacientes con del(13q) y aquéllos con monosomía 13, evidenciando efecto protector para la deleción y adverso para la monosomía, en tanto que la presencia de inactivación bialélica de *RBI* se relacionó a peor evolución clínica, con valor pronóstico independiente en la recaída de la enfermedad<sup>(54)</sup>.

La **del17p13**, lugar donde mapea el gen supresor de tumor *TP53* (*Tumor supresor P53*), es el factor de pronóstico adverso más importante en MM<sup>(4,12,55,56)</sup>, asociada a alto riesgo en el R-ISS (*Revised International Staging System*)<sup>(57)</sup>. Se la observa en aproximadamente el 10% de los pacientes al diagnóstico, llegando al 80% en los últimos estadios de la enfermedad, y se vincula con resistencia al tratamiento. El gen *TP53* funciona como un regulador transcripcional que participa en el control del ciclo celular, reparación y respuesta al daño del ADN, y promoción de la apoptosis, siendo uno de los genes más frecuentemente mutados en cánceres humanos. Su pérdida se relaciona a enfermedad agresiva, corta SV, enfermedad extramedular, hipercalcemia y compromiso del sistema nervioso central<sup>(10,12,58,59)</sup>. Se presenta en la mayoría de los casos con LCP tanto primaria como secundaria y es muy infrecuente en MGUS<sup>(60)</sup>.

Las **anomalías del cromosoma 1**, específicamente ganancias de 1q21, presentes en el 35-40% de los pacientes<sup>(61,62)</sup> y pérdidas de 1p observadas en el 30% de los casos<sup>(63,64)</sup>, se encuentran entre las alteraciones estructurales más frecuentes en el MM, comúnmente asociadas con progresión de la enfermedad<sup>(4,9,10,12)</sup>. En cuanto a la ganancia/amplificación de 1q, el gen más involucrado es *CKS1B* (*CDC28 protein kinase regulatory subunit 1B*), que mapea a nivel de 1q21.3; codifica para un regulador positivo del ciclo celular que activa las quinasas dependientes de ciclinas, promoviendo la proliferación celular<sup>(65)</sup>. La sobreexpresión de *CKS1B* se encuentra asociada a alto nivel de proliferación y pronóstico adverso<sup>(61,66,67)</sup>. El análisis del nivel de expresión de *CKS1B* y del número de copias mostró mayor valor pronóstico para este último<sup>(66,67)</sup>, en tanto que Stella y col.<sup>(66)</sup> detectaron mayor expresión de *CKS1B* en MM respecto de MGUS, sugiriendo un rol en la progresión de MGUS a MM. Las alteraciones de 1q21 muestran una fuerte asociación con otras anomalías recurrentes en MM como translocaciones de *IGH*, del13q14 y del17p13, cuya presencia claramente empeora el pronóstico de los pacientes<sup>(68)</sup>. Simultáneamente, las alteraciones de 1q han sido relaciona-

das con la presencia de translocaciones *jumping* y un mayor nivel de inestabilidad genómica<sup>(69)</sup>. Al presente hay otros genes de interés en la región, como *ADAR1* (*Adenosine Deaminase RNA Specific*) (1q21.3), que codifica para una enzima responsable de la edición del ARN, e *IL6R* (*Interleukina 6 membrane receptor*), subunidad del receptor de transmembrana de IL6, que confieren oncogenicidad a través de la activación de la vía de señalización JAK/STAT3<sup>(70-72)</sup>. Particularmente, el aumento de expresión de *ADAR1* contribuye a la patogénesis del MM y estimularía la progresión y resistencia a la terapia<sup>(72)</sup>.

En cuanto a la del1p, encontramos dos regiones de importancia, 1p12 y 1p32.3. La primera contiene al gen supresor tumoral *FAM46C* (*Family With Sequence Similarity 46 Member C*), cuya función es de importancia en la síntesis proteica<sup>(73)</sup>, también asociado a mala evolución clínica<sup>(64)</sup>. El punto de ruptura 1p32.3 se encuentra afectado con mayor frecuencia, siendo *CDKN2C* (*Cyclin dependent Kinase Inhibitor 2C*) el gen más involucrado, que participa en la regulación negativa del ciclo celular<sup>(74)</sup>, cuya desregulación se vincula con significado clínico adverso<sup>(75,76)</sup>. Si bien no es un evento frecuente, diferentes autores han detectado deleciones homocigotas de los genes involucrados en 1p, asociadas a mala evolución clínica<sup>(64,77)</sup>. El análisis conjunto de estas anomalías permitió establecer grupos de riesgo citogenético (Tabla 2), algunos de los cuales se encuentran en revisión.

Además, los pacientes con MM pueden presentar **rearreglos del gen MYC** en, aproximadamente, el 15% de los casos recién diagnosticados, llegando al 45% durante la progresión<sup>(78)</sup>. La sobreexpresión de este gen se asocia con formas más agresivas de la enfermedad, LCP y enfermedad extramedular<sup>(79-81)</sup>. El mismo tiene un rol central en el crecimiento y proliferación celular, replicación del ADN, síntesis proteica y metabolismo energético<sup>(82)</sup>. El mecanismo de activación se origina principalmente a través de translocaciones que involucran a los genes de las cadenas pesada y livianas de las inmunoglobulinas (50% de los casos) así como a *FAM46C*, *FOXO3*, *BMP6*, entre otros genes, en el 50% restante<sup>(83)</sup>. Diferentes estudios mostraron su activación durante la transición de MGUS a MM, indicando su implicancia en la progresión de la enfermedad, y sustentando la dependencia de las células de MM a dicho oncógeno para su supervivencia<sup>(78,80,84)</sup>. Su presencia en pacientes con cariotipos hiperdiploides constituye un factor de pronóstico adverso<sup>(18)</sup>. Un trabajo reciente de nuestro laboratorio<sup>(85)</sup> muestra rearreglos de *MYC* en el 11,5% de los pacientes, significativamente asociados a la presencia de falla renal. Recientemente se detectaron nuevas anomalías de valor pronóstico. Entre ellas encontramos la deleción de la región variable del gen *IGH* y la amplificación de su región constante evaluadas por FISH, asociadas a peor pronóstico y corta SV libre de progresión<sup>(86)</sup> y la inactivación bialélica del gen *BCMA*

**Tabla 2.** Grupos de riesgo citogenético

Riesgo alto (20-25%)
t(4;14)(p16;q32) (FISH)
t(14;16)(q32;q23) (FISH)
t(14;20)(q32;q11) (FISH)
del(17)(p13) (FISH)
del(1p) (citogenética o FISH)
Ganancia de 1q (citogenética o FISH)
Cariotipo complejo
Doble <i>hit</i>
Riesgo estándar (75-80%)
Hiperdiploidía
t(11;14)(q13;q32) (citogenética o FISH)
t(6;14)(p21;q32) (citogenética o FISH)

Modificado de Rajkumar<sup>(10)</sup>

(*B cell maturation antigen*), ubicado en 16p13.13. Éste último pertenece a la superfamilia del receptor de TNF (*Tumor necrosis factor*) (*TNFRSF17: TNF Receptor Superfamily Member 17*), es importante para el desarrollo de las células B, se expresa preferencialmente en linfocitos B maduros y resulta esencial para la supervivencia de las CP<sup>(87)</sup>. La del16p se observa en el 6,7% de los pacientes con MM, presentando co-ocurrencia con la del17p en el mismo clon en el 77% de los casos. A su vez, el 36% de los pacientes con del17p muestran del16p<sup>(88,89)</sup>. La sobreexpresión y activación de *BCMA* se asocian a progresión del MM, constituyendo un blanco terapéutico atractivo, ya sea como anticuerpo biespecífico, anticuerpo fármaco-conjugado o como anti-*BCMA* CAR T-cells<sup>(87)</sup>. La inactivación bialélica de *BCMA* constituye un mecanismo de recaída/resistencia a este último tratamiento<sup>(88,89)</sup>, siendo importante poder detectar esta anomalía en pacientes pasibles de ser incorporados a estos esquemas terapéuticos.

Otro aspecto de importancia es la presencia de **cariotipos complejos** (tres o más alteraciones cromosómicas), originados a partir de la acumulación de cambios secuenciales capaces de desregular mecanismos genéticos relacionados al desarrollo y/o progresión de la enfermedad<sup>(8,9,90)</sup>. Los mismos se encuentran significativamente asociados a pobre evolución clínica, constituyendo un factor pronóstico independiente y resaltando el valor del estudio citogenético en el MM.

### **MM doble hit**

Recientemente Walker y col<sup>(91)</sup> identificaron un nuevo subgrupo de pacientes con MM de alto riesgo y enfermedad muy agresiva, con características biológicas y clínicas específicas y muy corta SV libre de progresión y global a pesar de los nuevos tratamientos, denominado **MM doble hit**. Este subgrupo corresponde a aproximadamente el 6% del total de los casos e incluye pacientes con: a) inactivación bialélica de *TP53* (deleción en un alelo y mutación en el otro) y, b) estadio clínico ISS III con amplificación de *CKS1B* ( $\geq 4$  copias). 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, correspon-

de al 0,25% de los casos con MM al diagnóstico<sup>(92)</sup>, y afecta mayormente a individuos jóvenes<sup>(93)</sup>. La presencia de cariotipos hiperhaploides es un evento muy poco frecuente en MM<sup>(94,95)</sup>, pero es observado en leucemias agudas y algunos tumores sólidos<sup>(96)</sup>. 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. Estos pacientes muestran con frecuencia monosomía del cromosoma 17, usualmente asociada a mutación de *TP53* en el alelo restante, llevando a inactivación bialélica de dicho gen, quedando por lo tanto incluidos en el grupo de MM doble hit de muy alto riesgo<sup>(91)</sup>. Si bien no se conoce exactamente el mecanismo de origen de estos cariotipos, diferentes autores sugieren, en base a estudios secuenciales, que el cariotipo hiperhaploide se originaría por la pérdida de cromosomas a partir de un cariotipo diploide, como consecuencia de defectos en el huso mitótico y/o en los centrosomas que llevarían a una segregación anormal<sup>(91,92)</sup>.

Estos estudios sustentan 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 adaptada al riesgo, contribuyendo a un mejor diagnóstico y/o pronóstico, y aportando información para nuevos abordajes terapéuticos.

### **Agradecimientos**

El presente trabajo se efectuó con subsidios de Proyectos de Investigación Interinstitucionales de la Universidad de Morón y del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

**Conflictos de interés:** Los autores declaran no tener conflictos de interés.

## Bibliografía

1. Seer Cancer Statistics Review. Seer Cancer Statistics Review. Bethesda, MD: National Cancer Institute. 2018. Available online at: [https://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2015/](https://seer.cancer.gov/csr/1975_2015/)
2. Colunga-Pedraza PR, Gómez-Cruz GB, Colunga-Pedraza JE, Ruiz-Argüelles GJ. Geographic hematology: Some observations in Mexico. *Acta Haematol.* 2018;140:114-20.
3. Palumbo A, Anderson K. Multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2011;364:1046-60.
4. Fonseca R, Bergsagel PL, Drach J y col. International Myeloma Working Group molecular classification of multiple myeloma: spotlight review. *Leukemia.* 2009;23:2210-21.
5. Morgan GJ, Walker BA, Davies FE. The genetic architecture of multiple myeloma. *Nat Rev Cancer.* 2012;12:335-48.
6. Corre J, Munshi N, Avet-Loiseau H. Genetics of multiple myeloma: another heterogeneity level? *Blood.* 2015;125:1870-6.
7. Kumar SK, Rajkumar SV. The multiple myelomas - current concepts in cytogenetic classification and therapy. *Nat Rev Clin Oncol.* 2018;15:409-21.
8. Soekojo CY, Wang C-M, Chen Y y col. Role of conventional karyotyping in multiple myeloma in the era of modern treatment and FISH analysis. *Clin Lymph Myeloma.* *Leuk* 2019;19:e470-7.
9. Stella F, Pedrazzini E, Agazzoni M, Ballester O, Slavutsky I. Cytogenetic alterations in multiple myeloma: Prognostic significance and the choice of frontline therapy. *Cancer. Invest* 2015;27:1-9.
10. Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2020 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol.* 2020;95:548-67.
11. 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.
12. Manier S, Salem KZ, Park J y col. Genomic complexity of multiple myeloma and its clinical implications. *Nat Rev Clin Oncol.* 2017;14:100-3.
13. Chretien ML, Corre J, Lauwers-Cances V y col. Understanding the role of hyperdiploidy in myeloma prognosis: which trisomies really matter? *Blood.* 2015;126:2713-9.
14. Kumar S, Fonseca R, Ketterling RP y col. Trisomies in multiple myeloma: impact on survival in patients with high-risk cytogenetics. *Blood.* 2012;119:2100-5.
15. Perrot A, Lauwers-Cances V, Tournay E y col. Development and validation of a cytogenetic prognostic index predicting survival in multiple myeloma. *J Clin Oncol.* 2019; 37:1657-65.
16. Corre J, Munshi NC, Avet-Loiseau H. Risk factors in multiple myeloma: is it time for a revision? *Blood.* 2021;137:16-9.
17. Pawlyn C, Melchor L, Murison A y col. Coexistent hyperdiploidy does not abrogate poor prognosis in myeloma with adverse cytogenetics and may precede IGH translocations. *Blood.* 2015;125:831-40.
18. 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.
19. Rajan AM, Rajkumar SV. Interpretation of cytogenetic results in multiple myeloma for clinical practice. *Blood Cancer J.* 2015;5:e365.
20. Kuehl WM, Bergsagel PL. Molecular Pathogenesis of multiple myeloma and its premalignant precursor. *J Clin Invest.* 2012;122:3456-63.
21. An G, Xu Y, Shi L y col. t(11;14) Multiple myeloma: A subtype associated with distinct immunological features, immunophenotypic characteristics but divergent outcome. *Leuk Res.* 2013;37:1251-7.
22. Garand R, Avet-Loiseau H, Accard F, Moreau P, Harousseau JL, Bataille R. t(11;14) and t(4;14) translocations correlated with mature lymphoplasmacytoid and immature morphology, respectively, in multiple myeloma. *Leukemia.* 2003;17:2032-5.
23. Avet-Loiseau H, Garand R, Lode L y col. Translocation t(11;14)(q13;q32) is the hallmark of IgM, IgE, and nonsecretory multiple myeloma variants. *Blood.* 2003;101:1570-1.
24. Robillard N, Avet-Loiseau H, Garand R y col. CD20 is associated with a small mature plasma cell morphology and t(11;14) in multiple myeloma. *Blood.* 2003;102:1070-1.
25. Hundemer M, Klein U, Hose D y col. Lack of CD56 expression on myeloma cells is not a marker for poor prognosis in patients treated by high-dose chemotherapy and is associated with translocation t(11;14). *Bone Marrow Transplant.* 2007;40:1033-7.
26. Slomp A, Peperzak V. Role and regulation of pro-survival BCL-2 proteins in multiple myeloma. *Front Oncol.* 2018;8:533.
27. Touzeau C, Maciag P, Amiot M, Moreau P. Targeting

- Bcl-2 for the treatment of multiple myeloma. *Leukemia*. 2018;32:1899-907.
28. Lakshman A, Alhaj Moustafa M, Rajkumar SV y col. Natural history of t(11;14) multiple myeloma. *Leukemia*. 2018;32:131-8.
  29. Paner A, Patel P, Dhakal B y col. The evolving role of translocation t(11;14) in the biology, prognosis, and management of multiple myeloma. *Blood Rev*. 2019;41:100643.
  30. Chesi M, Nardini E, Lim R, Smith K, Kuehl W, Bergsagel P. The t(4;14) translocation in myeloma dysregulates both FGFR3 and a novel gene, MMSET, resulting in IgH/MMSET hybrid transcripts. *Blood*. 1998;92:3025-34.
  31. Santra M, Zhan F, Tian E, Barlogie B, Shaughnessy J Jr. A subset of multiple myeloma harboring the t(4;14) (p16;q32) translocation lacks FGFR3 expression but maintains an IGH/MMSET fusion transcript. *Blood*. 2003;101:2374-6.
  32. Keats JJ, Reiman T, Maxwell CA y col. In multiple myeloma, t(4;14)(p16;q32) is an adverse prognostic factor irrespective of FGFR3 expression. *Blood*. 2003;101:1520-9.
  33. Keats JJ, Maxwell CA, Taylor BJ y col. Overexpression of transcripts originating from the MMSET locus characterizes all t(4;14)(p16; q32)-positive multiple myeloma patients. *Blood*. 2005;105:4060-9.
  34. Marango J, Shimoyama M, Nishio H y col. The MMSET protein is a histone methyltransferase with characteristics of a transcriptional corepressor. *Blood*. 2008;111:3145-54.
  35. Pei H, Zhang L, Luo K y col. MMSET regulates histone H4K20 methylation and 53BP1 accumulation at DNA damage sites. *Nature*. 2011;470:124-8.
  36. Wu SP, Pfeiffer RM, Ahn IE y col. Impact of genes highly correlated with MMSET myeloma on the survival of non-MMSET myeloma patients. *Clin Cancer Res*. 2016;22: 4039-44.
  37. Moreau P, Attal M, Garban F y col. Heterogeneity of t(4;14) in multiple myeloma. Long-term follow-up of 100 cases treated with tandem transplantation in IFM99 trials. *Leukemia*. 2007;21:20204.
  38. Lazareth A, Song X-Y, Coquin A y col. MB4-2 breakpoint in MMSET combined with del(17p) defines a subset of t(4;14) multiple myeloma with very poor prognosis. *Haematologica*. 2015;100:e471-4.
  39. Du Ch, Mao X, Xu Y y col. 1q21 Gain but not t(4;14) indicates inferior outcomes in multiple myeloma treated with bortezomib. *Leuk Lymphoma*. 2020;61:1201-10.
  40. Kataoka K, Fujiwara KT, Noda M, Nishizawa M. MafB, a new Maf family transcription activator that can associate with Maf and Fos but not with Jun. *Mol Cell Biol*. 1994;14:7581-91.
  41. Nishizawa M, Kataoka K, Vogt PK. MafA has strong cell transforming ability but is a weak transactivator. *Oncogene*. 2003;22:7882-90.
  42. Van Stralen E, van de Wetering M, Agnelli L, Neri A, Clevers HC, Bast BJ. Identification of primary MAFB target genes in multiple myeloma. *Exp Hematol*. 2009;37:78-86.
  43. Hurt EM, Wiestner A, Rosenwald A y col. Overexpression of c-maf is a frequent oncogenic event in multiple myeloma that promotes proliferation and pathological interactions with bone marrow stroma. *Cancer Cell*. 2004;5:191-9.
  44. Zhan F, Huang Y, Colla S y col. The molecular classification of multiple myeloma. *Blood*. 2006;108:2020-8.
  45. Jenner MW, Leone PE, Walker BA y col. Gene mapping and expression analysis of 16q loss of heterozygosity identifies WWOX and CYLD as being important in determining clinical outcome in multiple myeloma. *Blood*. 2007;110:3291-300.
  46. Walker BA, Wardell CP, Johnson DC y col. Characterization of IGH locus breakpoints in multiple myeloma indicates a subset of translocations appear to occur in pregerminal center B cells. *Blood*. 2013;121:3413-9.
  47. Narita T, Inagaki A, Kobayashi T y col. t(14;16)-positive multiple myeloma shows negativity for CD56 expression and unfavorable outcome even in the era of novel drugs. *Blood Cancer J*. 2015;5:e285.
  48. Mina R, Joseph NS, Gay F y col. Clinical features and survival of multiple myeloma patients harboring t(14;16) in the era of novel agents. *Blood Cancer J*. 2020;10:40.
  49. Ross FM, Chiecchio L, Dagrada GP y col. The t(14;20) is a poor prognostic factor in myeloma but is associated with long-term stable disease in monoclonal gammopathies of undetermined significance. *Haematologica*. 2010;95:1221-5.
  50. Kaufmann H, Ackermann J, Baldia C y col. Both IGH translocations and chromosome 13q deletions are early events in monoclonal gammopathy of undetermined significance and do not evolve during transition to multiple myeloma. *Leukemia*. 2004;18:1879-82.
  51. Avet-Louseau H, Daviet A, Sauner S, Bataille R. Chro-

- mosome 13 abnormalities in multiple myeloma are mostly monosomy 13. *Br J Haematol.* 2000;111:1116-7.
52. Shaughnessy J Jr, Tian E, Sawyer J y col. Prognostic impact of cytogenetic and interphase fluorescence in situ hybridization-defined chromosome 13 deletion in multiple myeloma: early results of total therapy II. *Br J Haematol.* 2003;120:44-52.
  53. Binder M, Rajkumar SV, Ketterling RP y col. Prognostic implications of abnormalities of chromosome 13 and the presence of multiple cytogenetic high-risk abnormalities in newly diagnosed multiple myeloma. *Blood Cancer J.* 2017;7:e600.
  54. Chavan SS, He J, Tytarenko R y col. Bi-allelic inactivation is more prevalent at relapse in multiple myeloma, identifying RB1 as an independent prognostic marker. *Blood Cancer J.* 2017;7:1-7.
  55. Xiong W, Wu X, Starnes S y col. An analysis of the clinical and biologic significance of TP53 loss and the identification of potential novel transcriptional targets of TP53 in multiple myeloma. *Blood.* 2008;112:4235-46.
  56. Jovanovic KK, Escure G, Demonchy J y col. Deregulation and targeting of TP53 pathway in multiple myeloma. *Front Oncol.* 2019;8:665.
  57. Palumbo A, Avet-Loiseau H, Oliva S y col. Revised International Staging System for Multiple Myeloma: a report from International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol.* 2015;33:2863-9.
  58. Chang H, Sloan S, Li D, Keith Stewart A. Multiple myeloma involving central nervous system: high frequency of chromosome 17p13.1 (p53) deletions. *Br J Haematol.* 2004;127: 280-4.
  59. Chang H, Qi C, Yi QL, Reece D, Keith Stewart A. p53 gene deletion detected by fluorescence in situ hybridization is an adverse prognostic factor for patients with multiple myeloma following autologous stem cell transplantation. *Blood.* 2005;105:358-60.
  60. Tiedemann RE, Gonzalez-Paz N, Kyle RA y col. Genetic aberrations and survival in plasma cell leukemia. *Leukemia.* 2008;22:1044-52.
  61. Shaughnessy J. Amplification and overexpression of CKS1B at chromosome band 1q21 is associated with reduced levels of p27Kip1 and an aggressive clinical course in multiple myeloma. *Hematology.* 2005;10 (Suppl. 1): 117-26.
  62. Hanamura I, Stewart JP, Huang Y y col. Frequent gain of chromosome band 1q21 in plasma-cell dyscrasias detected by fluorescence in situ hybridization: incidence increases from MGUS to relapsed myeloma and is related to prognosis and disease progression following tandem stem-cell transplantation. *Blood.* 2006;108:1724-32.
  63. Chang H, X Qi, A Jiang y col. 1p21 deletions are strongly associated with 1q21 gains and are an independent adverse prognostic factor for the outcome of high-dose chemotherapy in patients with multiple myeloma. *Bone Marrow Transp.* 2010;45:117-21.
  64. Boyd KD, Ross FM, Walker BA y col. Mapping of chromosome 1p deletions in myeloma identifies FAM46C at 1p12 and CDKN2C at 1p32.3 as being genes in regions associated with adverse survival. *Clin Cancer Res.* 2011;17:7776-84.
  65. Zhan F, Colla S, Wu X y col. CKS1B, over expressed in aggressive disease, regulates multiple myeloma growth and survival through SKP2- and p27Kip1- dependent and independent mechanisms. *Blood.* 2007;109:4995-5001.
  66. Stella F, Pedrazzini E, Baialardo E, Fantl DB, Schutz N, Slavutsky I. Quantitative analysis of CKS1B mRNA expression and copy number gain in patients with plasma cell disorders. *Blood Cells Mol Dis.* 2014;53:110-7.
  67. Fonseca R, Van Wier SA, Chng WJ y col. Prognostic value of chromosome 1q21 gain by fluorescent in situ hybridization and increase CKS1B expression in myeloma. *Leukemia.* 2006;20:2034-40.
  68. Grzasko N, Hus M, Pluta A y col. Additional genetic abnormalities significantly worsen poor prognosis associated with 1q21 amplification in multiple myeloma patients. *Hematol Oncol.* 2013;31:41-8.
  69. Sawyer JR, Tricot G, Lukacs JL y col. Genomic instability in multiple myeloma: evidence for jumping segmental duplications of chromosome arm 1q. *Genes Chromosome Cancer.* 2005;42:95-106.
  70. Teoh PJ, An O, Chung T-H y col. Aberrant hyperediting of the myeloma transcriptome by ADAR1 confers oncogenicity and is a marker of poor prognosis. *Blood.* 2018;132:1304-17.
  71. Teoh PJ, Chung T-H, Chng PYZ, Toh SHM, Chng WJ. IL6R-STAT3-ADAR1 (P150) interplay promotes oncogenicity in multiple myeloma with 1q21 amplification. *Haematologica.* 2020;105:1391-404.
  72. Lazzari E, Mondala PK, Delos Santos N y col. Alu-dependent RNA editing of GLI1 promotes malignant regeneration in multiple myeloma. *Nat Commun.* 2017;8:1922.
  73. Chapman MA, Lawrence MS, Keats JJ y col. Initial genome sequencing and analysis of multiple myeloma. *Nature.* 2011;471:467-72.

74. Kulkarni MS, Daggett JL, Bender TP, Kuehl WM, Bergsagel PL, Williams ME. Frequent inactivation of the cyclin-dependent kinase inhibitor p18 by homozygous deletion in multiple myeloma cell lines: ectopic p18 expression inhibits growth and induces apoptosis. *Leukemia*. 2002;16:127-34.
75. Leone PE, Walker BA, Jenner MW y col. Deletions of CDKN2C in multiple myeloma: biological and clinical implications. *Clin Cancer Res*. 2011;14:6033-41.
76. Hebraud B, Leleu X, Lauwers-Cances V y col. Deletion of the 1p32 region is a major independent prognostic factor in young patients with myeloma: the IFM experience on 1195 patients. *Leukemia*. 2014;28:675-9.
77. Dickens NJ, Walker BA, Leone PE y col. Homozygous deletion mapping in myeloma samples identifies genes and an expression signature relevant to pathogenesis and outcome. *Clin Cancer Res*. 2010;16:1856-64.
78. 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.
79. Chiecchio L, Dagrada GP, White HE y col. Frequent upregulation of MYC in plasma cell leukemia. *Genes Chromosome Cancer*. 2009;48:624-36.
80. 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:e191-7.
81. Møller HEH, Preiss BS, Pedersen P y col. Myc protein overexpression is a feature of progression and adverse prognosis in multiple myeloma. *Eur J Haematol*. 2018;101:585-90.
82. Dang CV. MYC on the path to cancer. *Cell*. 2012;149:22-35.
83. Dib A, Gabrea A, Glebov OK y col. Characterization of MYC translocations in multiple myeloma cell lines. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2008;39:25-31.
84. Chesi M, Bergsagel PL. Advances in the pathogenesis and diagnosis of multiple myeloma. *Int J Lab Hematol*. 2015;37(S1):108-14.
85. Guash LG, Zurita S, Lannutti L, Pantuso F, Slavutsky I, Stella F. Evaluación de desbalances genómicos en desórdenes de células plasmáticas. *Rev Inv Científicas Univ de Morón*. 2020;7:33-46.
86. Rabani H, Ziv M, Lavi N y col. Deletions and amplifications of the IGH variable and constant regions: a novel prognostic parameter in patients with multiple myeloma. *Leuk Res*. 2020;99:106476.
87. Shah N, Chari A, Scott E, Mezzi K, Usmani SZ. B-cell maturation antigen (BCMA) in multiple myeloma: rationale for targeting and current therapeutic approaches. *Leukemia*. 2020;34:985-1005.
88. Da Vià MC, Dietrich O, Truger M y col. Homozygous BCMA gene deletion in response to anti-BCMA CAR T cells in a patient with multiple myeloma. *Nature Med*. 2021;27:616-9.
89. Samur MK, Fulciniti M, Samur AA y col. Biallelic loss of BCMA as a resistance mechanism to CAR T cell therapy in a patient with multiple myeloma. *Nature Comm*. 2021; 12:868.
90. Stella F, Pedrazzini E, Rodríguez A y col. New recurrent chromosome alterations in patients with multiple myeloma and plasma cell leukemia. *Cytogenet Genom Res*. 2011;134: 249-59.
91. 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.
92. 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.
93. Peterson JF, Rowsey RA, Marcou CA y col. Hyperhaploid plasma cell myeloma characterized by poor outcome and monosomy 17 with frequently co-occurring TP53 mutations. *Blood Cancer J*. 2019;9:20.
94. 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.
95. Hoctor VT, Campbell LJ. Hyperhaploid plasma cell myeloma. *Cancer Genet*. 2012;205:414-8.
96. Mandahl N, Johansson B, Mertens F, Mitelman F. Disease-associated patterns of disomic chromosomes in hyperhaploid neoplasms. *Genes Chromosome Cancer*. 2012;51:536-44.



**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.

# Déficit de MPO detectado por sistema PANDA. Reporte de un caso

Case report: MPO deficiency detected by PANDA system

Almirón MN, Arias M

*Laboratorio de Hematología, Hemostasia y Citometría de Flujo.  
Hospital Dr. César Milstein*

mauricionicolasalmliron@gmail.com

Fecha recepción: 4/11/2021  
Fecha aprobación: 1/12/2021



CASO CLÍNICO

HEMATOLOGÍA  
Volumen 25 n° 3: 64-67  
Septiembre - Diciembre 2021

**Palabras claves:** mieloperoxidasa, ADVIA, déficit.

**Keywords:** deficiency, myeloperoxidase, ADVIA.

## Objetivos

- Mostrar y educar acerca de cómo el déficit de MPO puede conducir a informar resultados falsos en la fórmula leucocitaria cuando se utilizan equipos con sistema PANDA (Peroxidase activity and nuclear density analysis).
- Destacar la importancia del extendido de sangre periférica y la citoquímica en la rutina diaria.

## Caso clínico

Paciente femenino de 88 años con diagnóstico de tumor maligno de colon en tratamiento oncológico. Acude a nuestro laboratorio para realizar un hemograma, que se lleva a cabo en el contador hematológico ADVIA 2120 de Siemens que utiliza sistema PANDA para realizar el diferencial de leucocitos. En él se observa una neutropenia severa, por lo que se

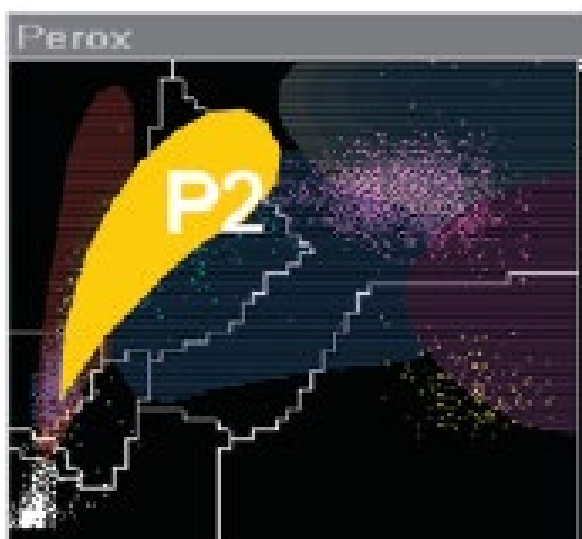
decide hacer un frotis de sangre periférica coloreado con May Grünwald-Giemsa para confirmar el resultado, obteniéndose por este método una fórmula porcentual normal.

	ADVIA 2120 (%)	Microscopía óptica (%)
Neutrófilos	21	68
Linfocitos	24	24
Monocitos	52	6
Eosinófilos	2	2
Basófilos	1	0

En el gráfico de actividad de peroxidasa vs tamaño celular obtenido en el ADVIA 2120 se observó lo siguiente (Gráfico 1):



**Gráfico 1.** Actividad de peroxidasa vs tamaño celular de la muestra del paciente.



**Gráfico 2.** Actividad de peroxidasa vs tamaño celular típico para un paciente con déficit parcial de MPO.

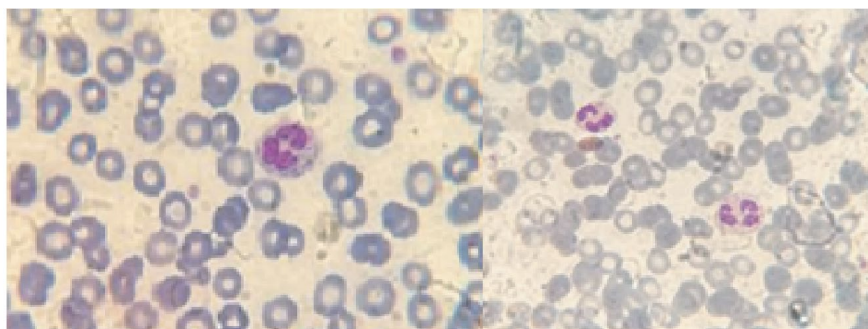
Ante esta discrepancia se decide realizar la fórmula diferencial utilizando un DxH 800 de Beckman Coulter, que utiliza para obtener el diferencial tecnología VCS y, por otro lado, un contador hematológico Sysmex, que posee citometría de flujo (FSC vs SSC) para hacer la fórmula leucocitaria. Se obtuvieron los siguientes resultados (Tabla 1). Debido a que los contadores hematológicos

utilizados poseen diferentes tecnologías para realizar el diferencial de la fórmula leucocitaria, se decidió llevar a cabo una reacción citoquímica para MPO. En la misma se observó que los neutrófilos de la paciente carecían parcial o totalmente de peroxidasa (Figura 1).

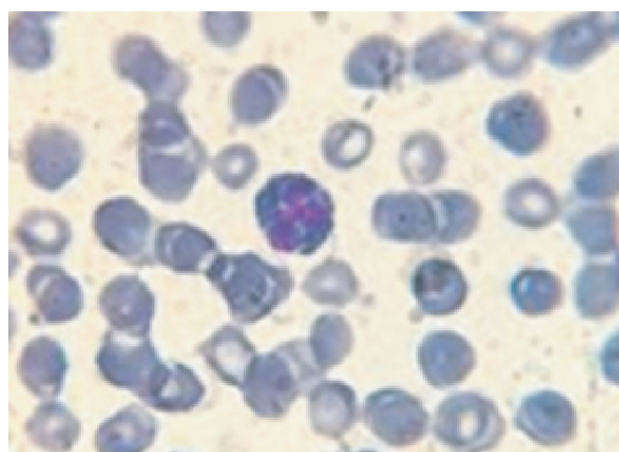
Paralelamente se llevó a cabo un control positivo de MPO para validar la reacción (Figura 2).

**Tabla 1.** Resultados del diferencial obtenidos por equipos automatizados que difieren en la tecnología para realizar la fórmula leucocitaria.

	DxH 800 (%)	Sysmex (%)
Neutrófilos	64	58
Linfocitos	25	29
Monocitos	9	10
Eosinófilos	2	3
Basófilos	0	0



**Figura 1.** Citoquímica para MPO. Obsérvese la ausencia parcial o total de la actividad de MPO en los neutrófilos del paciente.



**Figura 2.** Control de la reacción citoquímica para MPO.

Con estos resultados podemos asegurar que el paciente presenta un déficit parcial de MPO en los neutrófilos, demostrado por diferentes metodologías (automatizada y manual) que confirman la sospecha inicial que surge al observar el patrón P2 característico que tienen estos pacientes.

### Conclusión

- Tener especial cuidado con las neutropenias relativas obtenidas de contadores hematológicos que

utilicen PANDA para realizar el diferencial de leucocitos.

- La inspección al microscopio óptico sigue siendo una herramienta fundamental en la práctica diaria de la hematología clínica.
- La citoquímica de la MPO es una técnica sencilla y económica que debe estar disponible en la rutina, ya que brinda información valiosa en poco tiempo.

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

### Bibliografía

1. Winterbourn CC, Vissers MC, Kettle AJ. Myeloperoxidase. *Curr Opin Hematol.* 2000;7:53-58.
2. Lanza F. Clinical manifestation of myeloperoxidase deficiency. *J Mol Med.* 1998;76:676-681.
3. Zini G, d'Onofrio G. Neural network in hematopoietic malignancies. *Clin Chim Acta.* 2003;333:195-201.
4. D'Onofrio G. PANDA: innovative classification of hematopoietic malignancies. *Bloodline Rev.* 2001;1:3-6.



**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.

# Aplasia eritrocítica pura y síndrome antifosfolípido primario: una asociación autoinmune

## Pure red cell aplasia and primary antiphospholipid syndrome: an autoimmune association

Ghayad E<sup>1</sup>; Kadri Z<sup>2</sup>; Haddad F<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Departamento de medicina interna e inmunología clínica, Hospital Hôtel-Dieu de France, Universidad Saint-Joseph, Beirut - Líbano.*

<sup>2</sup> *Departamento de Cardiología, Hospital Hôtel-Dieu de France, Universidad Saint-Joseph, Beirut - Líbano.*

elieghayad@gmail.com

Fecha recepción: 9/10/2021  
Fecha aprobación: 13/12/2021



CASO CLÍNICO

HEMATOLOGÍA

Volumen 25 n° 3: 68-71

Septiembre - Diciembre 2021

**Palabras claves:** anemia,  
antifosfolípido,  
autoinmunidad.

**Keywords:** anemia,  
antiphospholipid,  
auto-immunity.

### Resumen

La aplasia eritrocítica pura es una causa poco frecuente de anemia no regenerativa debida a una supresión autoinmune de la eritropoyesis. Se ha asociado clásicamente con el lupus eritematoso sistémico y la artritis reumatoidea. Presentamos el caso de un paciente con síndrome antifosfolípido primario que desarrolló una anemia grave concordante con una aplasia eritrocítica pura. Esta asociación refuerza la base autoinmune de la aplasia eritrocítica pura.

### Abstract

Pure red cell aplasia is an uncommon cause of non-regenerative anemia due to an autoimmune suppression of erythropoiesis. It has been classically associated with systemic lupus erythematosus

and rheumatoid arthritis. We report the case of a patient with primary antiphospholipid syndrome who developed severe anemia concordant with pure red cell aplasia. The aforementioned association reinforces the autoimmune basis of pure red cell aplasia.

### Introducción

Pure red cell aplasia (PRCA) is a rare cause of anemia. This diagnosis should be considered by the clinician investigating an anemia with a negative initial workup, particularly if an associated medical condition is present.

### Case description

We report the case of a 34-year-old patient with a 10-year history of antiphospholipid syndrome

diagnosed after an anterior acute coronary syndrome secondary to an ostial left anterior descending (LAD) coronary artery stenosis which required coronary artery bypass grafting.

Serological studies were positive for lupus anticoagulant, anticardiolipin antibodies (IgM & IgG) and anti-beta-2-glycoprotein antibodies confirmed on multiple testing. Of note antinuclear antibodies were negative.

He also developed progressive peripheral artery disease with intermittent claudication requiring a right femoral popliteal bypass surgery.

He was treated with warfarin adjusted to an INR target of 2-3, nebivolol, sulodexide, irbesartan and atorvastatin.

The patient was admitted in Hôtel-Dieu de France hospital, Beirut, Lebanon for acute chest pain radiating to the left arm associated with normal electrocardiogram, elevated cardiac markers, and anemia. Coronary angiography revealed a new 50% LAD stenosis along with patent coronary bypass grafts: the chest pain was then attributed to a type 2 myocardial infarction.

At admission the patient had an anemia characterized by a hemoglobin level of 8 g/dL (hematocrit level of 25%) with a normocytic normochromic profile and a notably very low reticulocyte count (5440/mm<sup>3</sup>; 0.1% corrected for hematocrit level). Iron studies revealed normal serum iron with high ferritin level, and elsewhere the patient had normal vitamin B9, B12 and TSH measurements. Concerning hemolysis biomarkers, haptoglobin and unconjugated bilirubin dosages were within the reference range not indicating hemolysis along with a mild-

ly elevated lactate dehydrogenase level; direct and indirect Coombs testing were negative. Elsewhere, peripheral blood smear showed anisocytosis and poikilocytosis.

Other blood examinations done on admission revealed a normal kidney and liver function tests.

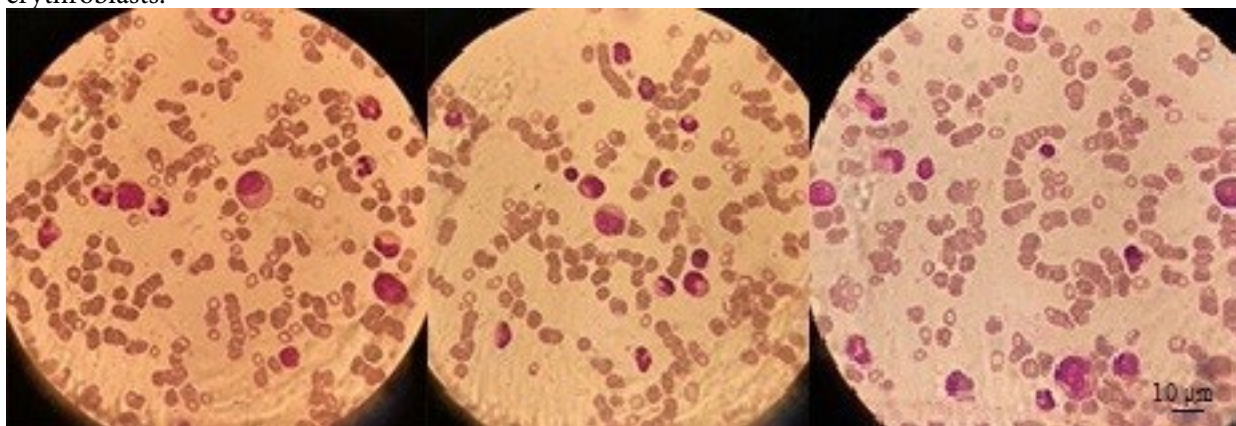
Multiple packed red blood cell transfusions were administered with improvement in the patient's symptoms.

A bone marrow aspirate and biopsy were done and were compatible with pure red cell aplasia, showing a normocellular marrow with absence of erythroid precursors.

Etiological differential diagnoses were eliminated: thymoma was ruled out by thoracic computed tomography; lymphoma and myelodysplastic syndrome were also ruled out by the bone marrow studies; serologies for parvovirus B19, hepatitis B & C and human immunodeficiency virus were negative as well as plasma polymerase chain reaction for cytomegalovirus and Epstein-Barr virus; drug history did not reveal any possibly causative agent. Complement levels were normal and antinuclear antibodies were negative. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria was eliminated on the basis of the absence of hemolysis or other cytopenias; flow cytometry was not performed.

The patient was subsequently treated with methylprednisolone intravenous pulse therapy for 5 days then discharged on prednisone 1 mg/kg/day with subsequent tapering and cyclosporin 3 mg/kg/day divided in two doses with blood testing follow-up. Of note hemoglobin measurement on the final day of hospitalization was 7.7 g/dL.

**Figure 1.** May Grunwald Giemsa staining of bone marrow aspirate showing a remarkable absence of erythroblasts.



On follow-up after two months, the patient was asymptomatic, with blood tests showing a hemoglobin level of 10 g/dL (hematocrit 29.7%) and a corrected reticulocyte count of 1%, marking an improvement of his condition. Cyclosporin treatment was maintained, and prednisone tapering continued at a rate of 10 mg per week until 20 mg daily. Antiphospholipid antibodies dosing was planned for the next follow-up appointment.

### Discussion

Pure red cell aplasia is a syndrome defined by a normocytic normochromic anemia with severe reticulocytopenia and marked reduction or absence of erythroid precursors from the bone marrow<sup>(1)</sup>, without affecting other lineages. PRCA may be either congenital (Diamond-Blackfan anemia) or acquired and if the latter is the case, primary PRCA should be distinguished from PRCA secondary to other etiologies, such as infectious, neoplastic (lymphoproliferative disorders, hematologic malignancies, solid tumors) or auto-immune/collagen vascular diseases<sup>(1)</sup>. Concerning auto-immune diseases, PRCA has been particularly described in association with systemic lupus erythematosus<sup>(2)</sup> and rheumatoid arthritis<sup>(3)</sup>. In some cases, patient serum may inhibit the growth of erythroid precursor cells of both the patient and control, while in other cases the inhibition may be mediated by T-lymphocytes<sup>(4)</sup>. In previous reports, Walton et al first described a case of PRCA and antiphospholipid syndrome (APS) in a female patient who also presented with

hemolytic anemia and had positive anti-DsDNA antibodies compatible with systemic lupus erythematosus<sup>(5)</sup>. The case of a patient with APS who developed PRCA and neuro-lupus was also reported by Murayama et al<sup>(6)</sup>.

To our knowledge the association between PRCA and APS without concurrent lupus erythematosus has been described once in the medical literature, by Caldas et al<sup>(7)</sup>. In this case, the patient had been taking chlorpromazine for 13 years, a drug known for its myelotoxicity<sup>(8)</sup> and for its ability to induce the production of antiphospholipid antibodies<sup>(9)</sup>. As noted by the authors<sup>(7)</sup>, the anticardiolipin antibodies persisted at high titer after drug discontinuation.

We present the case of a patient known to have primary APS with negative anti-nuclear antibodies who developed PRCA, with no other concurrent contributing factor. Antiphospholipid antibodies can cross-react with erythrocyte membranes, as shown by Del Papa et al, with antibodies eluted from red blood cells displaying anti-cardiolipin binding activity<sup>(10)</sup>.

In regard to management, we treated the patient as per the standard of care for primary PRCA with corticosteroids and cyclosporine<sup>(1)</sup>.

In conclusion, antiphospholipid syndrome should be considered in the differential diagnosis for pure red cell aplasia in the appropriate clinical setting.

The patient gave informed consent for the publication of his/her case.

The authors declare that there is no conflict of interest.

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

### References

1. Means RT Jr. Pure red cell aplasia. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program*. 2016 Dec 2;2016(1):51-6.
2. Lobbes H, Mahevas M, Alviset S, Galicier L, Costedoat-Chalumeau N, Amoura Z et al. Pure Red Cell Aplasia in Systemic Lupus Erythematosus, a Nationwide Retrospective Cohort and Review of the Literature. *Blood*. 2020 Nov 5;136(Supplement 1):45-6.
3. Dessypris EN. Rheumatoid Arthritis and Pure Red Cell Aplasia. *Ann Intern Med*. 1984 Feb 1;100(2):202.
4. Dessypris EN. The biology of pure red cell aplasia. *Semin Hematol*. 1991;28(4):275-84.
5. Walton T, Karim Y, Wright D, Khamashta M, Hughes G. The association of pure red cell aplasia with the antiphospholipid syndrome. *Lupus*. 2001 Dec;10(12):899-901.
6. Murayama J, Asanuma Y, Tsuda T, Nishida J, Moriguchi M. Appearance of central nervous system lupus during corticosteroid therapy and warfarinization in a patient with pure red cell aplasia and antiphospholipid syndrome. *Jpn J Clin Immunol*. 2006;29(1):43-7.
7. Caldas CAM, de Carvalho JF. Pure red cell aplasia and primary antiphospholipid syndrome: a unique association. *Rheumatol Int*. 2012 May;32(5):1363-5.
8. Benestad HB. Aplastic anaemia: considerations on the pathogenesis. *Acta Med Scand*. 2009 Apr 24;196(1-6):255-62.
9. Mintzer DM, Billet SN, Chmielewski L. Drug-Induced Hematologic Syndromes. Matutes EM, editor. *Adv Hematol*. 2009 Jul 7;2009:495863.
10. Del Papa N, Meroni PL, Barcellini W, Borghi MO, Fain C, Khamashta M, et al. Antiphospholipid antibodies cross-reacting with erythrocyte membranes. A case report. *Clin Exp Rheumatol*. 1992 Aug;10(4):395-9.



**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.

# Leucemia agresiva de células *natural killer*

## Aggressive natural killer cell leukaemia

Auat M<sup>1</sup>, Verdie J<sup>3</sup>, Halperin N<sup>1</sup>, Cabral C<sup>2</sup>, Altube A<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Citometría de Flujo.

<sup>2</sup> Departamento de Patología.

<sup>1,3</sup> División Hematología. Hospital de Clínicas "José de San Martín".  
Universidad de Buenos Aires.

amaltube@hotmail.com

Fecha recepción: 25/8/2021

Fecha aprobación: 15/12/2021



## CASO CLÍNICO

HEMATOLOGÍA

Volumen 25 n° 3: 72-78

Septiembre - Diciembre 2021

**Palabras claves:** células NK,  
citometría de flujo,  
inmunofenotipo,  
leucemia agresiva de células NK.

**Keywords:** NK cells,  
flow cytometry,  
immunophenotype,  
aggressive NK cell leukemia.

### Resumen

Las células citotóxicas naturales (*natural killer*, NK) son células linfoides del sistema inmune innato. La persistencia de un estímulo antigénico puede llevarlas a un estado de célula exhausta y la acumulación de mutaciones puede transformarlas en células malignas. La "leucemia agresiva de células NK" (*aggressive NK cell leukaemia*, ANKL) es una entidad originada por estas células transformadas. Presentamos aquí un caso clínico de ANKL y una revisión sobre el inmunofenotipo de las células NK.

### Abstract

Natural cytotoxic cells (*natural killer*, NK) are lymphoid cells of the innate immune system. The persistence of an antigenic stimulus can lead to an ex-

hausted cell state and the accumulation of mutations can transform them into malignant cells. Aggressive NK cell leukemia (ANKL) is an entity caused by these transformed cells. We present here a clinical case of ANKL and a review on the immunophenotype of NK cells.

### Introducción

La ANKL es un desorden linfoproliferativo maligno de células NK maduras, asociada al virus Epstein-Barr (EBV), de curso clínico agresivo, de mal pronóstico y con una sobrevida media menor a un año<sup>(1)</sup>.

Los pacientes con ANKL frecuentemente presentan hepatoesplenomegalia, pancitopenia, función hepática alterada, LDH elevada y generalmente

desarrollan síndrome hemofagocítico, coagulación intravascular diseminada y falla multiorgánica<sup>(2)</sup>.

Las células NK tumorales usualmente expresan de manera intensa la molécula de adhesión CD56 y el receptor tipo lectina CD94 y tienen un fenotipo relacionado con activación (CD7<sup>-/+dim</sup>, CD45RO<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>). En contraste CD16 y CD57 son frecuentemente negativos<sup>(2)</sup>.

Debido a estas características fenotípicas se postula a las células NK maduras CD56<sup>bright</sup> como la célula de origen de la ANKL, que luego de la infección por el EBV se activan y pueden transformarse hacia células malignas<sup>(2)</sup>.

El presente artículo tiene como objetivo compartir el abordaje de un paciente cuyo diagnóstico final fue ANKL y presentar una revisión del inmunofenotipo de las células NK.

**Caso clínico**

Paciente de sexo masculino, de 19 años que comenzó su enfermedad tres meses previos a la consulta, con registros febriles diarios, y agregó en el último

mes tricitopenia. Por progresión de sus síntomas consultó a nuestra institución.

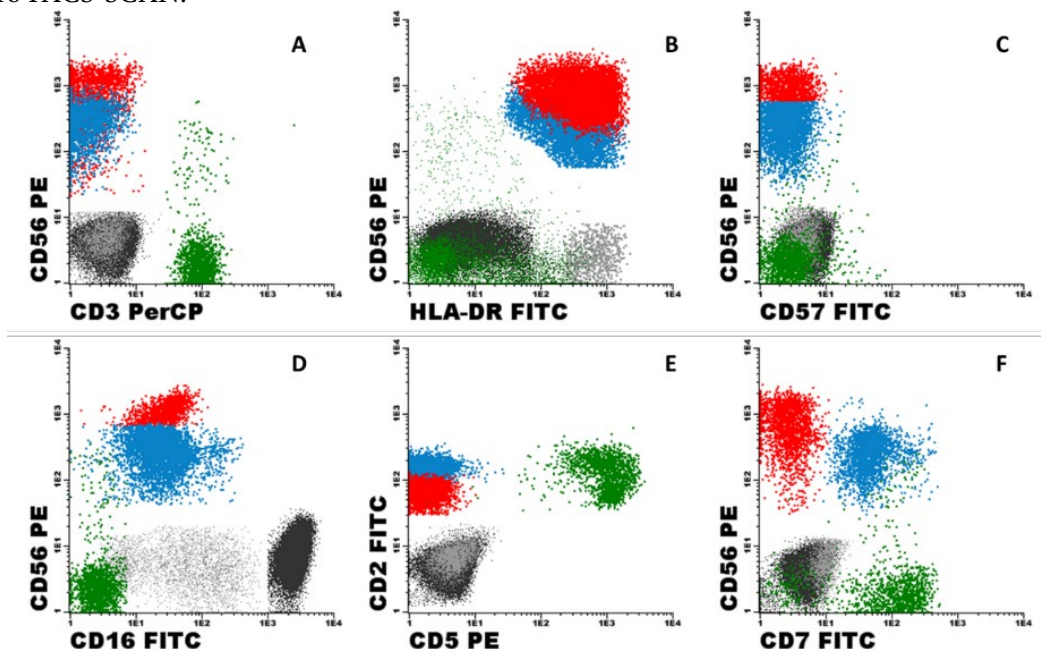
Como antecedentes de relevancia, el paciente había cursado una meningitis viral a la edad de 11 años y neurocisticercosis diagnosticada a los 4 años.

Ingresó estable, febril, sin adenopatías periféricas, hepatoesplenomegalia, glóbulos blancos 1980 células/μL (24% linfocitos, 61% neutrófilos, 11% monocitos), plaquetas 70.000 células/μL, hemoglobina 10,9 g/dL, ESD 7 mm/h; TGP 165 UI/L, TGO 177 UI/L, FAL 1043 UI/L, LDH 1554 UI/L, ferritina 680 ng/mL.

Se realizó PAMO que evidenció imágenes de hemofagocitosis.

Se solicitó estudio por citometría de flujo multiparamétrica (CFM) para descartar proceso linfoproliferativo. La CFM de médula ósea (MO) y sangre periférica (SP) informó células NK aumentadas (16% y 9% respectivamente): 47% de las mismas con fenotipo aberrante: CD56<sup>+++</sup>, CD16<sup>(+débil)</sup> variable, CD7<sup>(-/+débil)</sup>, CD2<sup>(+débil/+)</sup>, CD57<sup>(-)</sup>, HLA-DR<sup>(+)homogéneo</sup>, CD94<sup>+</sup>, mCD3<sup>(-)</sup> (Figuras 1 y 2).

**Figura 1.** Nubes de puntos que muestran el inmunofenotipo de las células NK patológicas (población roja) y las células NK normales residuales (población celeste) presentes en la muestra del paciente. También se muestran linfocitos T y B normales (verde), monocitos (gris) y neutrófilos (negro) presentes en la muestra de SP del paciente. Nótese que las células NK neoplásicas expresan CD56<sup>++</sup> (A), presentan positividad homogénea para HLA-DR (B) y son negativas para CD3, CD57, CD16 y CD5 (A-E). Además, muestran disminución de expresión de CD2 (E) y pérdida de expresión de CD7 (F) respecto a las células NK normales residuales. La caracterización fenotípica fue realizada usando paneles de 3 colores (FITC, PE y PerCP) y citómetro FACS-SCAN.



El informe anatomopatológico de MO describió signos de hemofagocitosis e infiltración por células linfoides de estirpe NK asociada a EBV (EBER1 positivo) (Figuras 3, 4 y 5).

El paciente evolucionó con deterioro de la función hepática, ferritinas mayores a 1650 ng/mL y fibrinógeno en descenso.

La carga viral en SP para EBV fue de 520560 copias/mL.

Se interpretó como leucemia agresiva de células NK y se inició tratamiento quimioterápico SMILE con L-asparaginasa.

Presentó una evolución tórpida y tres meses después de su ingreso falleció por progresión de la enfermedad.

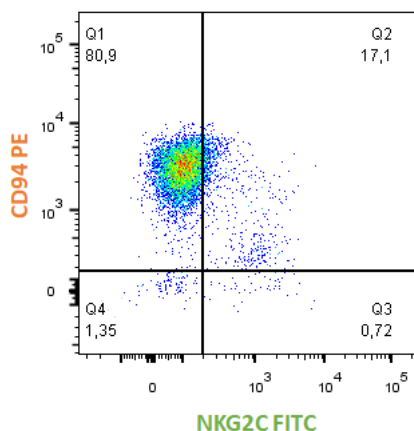
## Discusión

Las células NK son células linfoides del sistema inmune innato que ejercen su función efectora mediante su capacidad citolítica y mediante la síntesis y liberación, principalmente, de interferón- $\gamma$ .

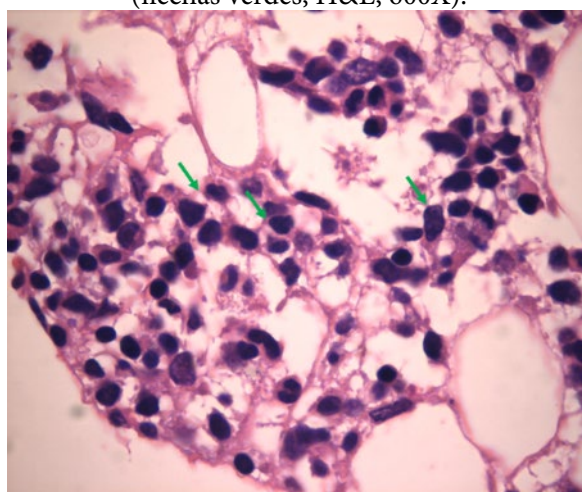
Por definición, las células NK no expresan CD3 en su superficie, ni el receptor de células T (TCR), son positivas para CD56 y expresan cantidades variables de CD16; son CD2<sup>+</sup> (unas pocas son CD2<sup>-</sup>), CD7<sup>+bright</sup>, CD5<sup>-</sup>, CD4<sup>-</sup> y CD8<sup>-/+dim</sup>.

Las células NK maduras comprenden al menos dos poblaciones: CD56<sup>+bright</sup> CD16<sup>-/+dim</sup> y CD56<sup>+dim</sup> CD16<sup>+</sup> y probablemente correspondan a estadios secuenciales de diferenciación<sup>(2)</sup>. En condiciones normales, en sangre periférica (SP) y medula ósea

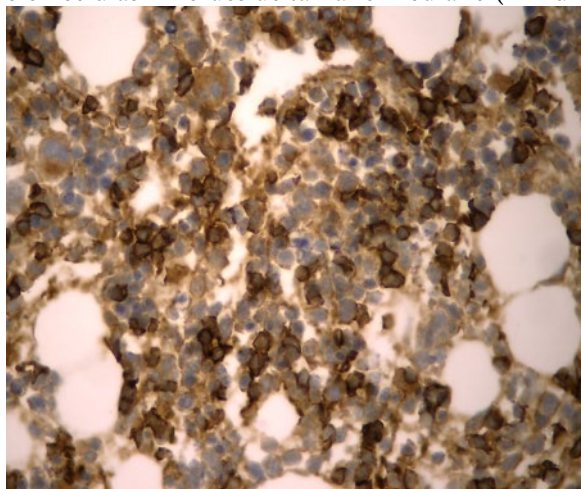
**Figura 2.** CD94 positivo en células NK totales. Inmunofenotipo realizado por el Dr. Norberto Zwirner, director del laboratorio IBYME.



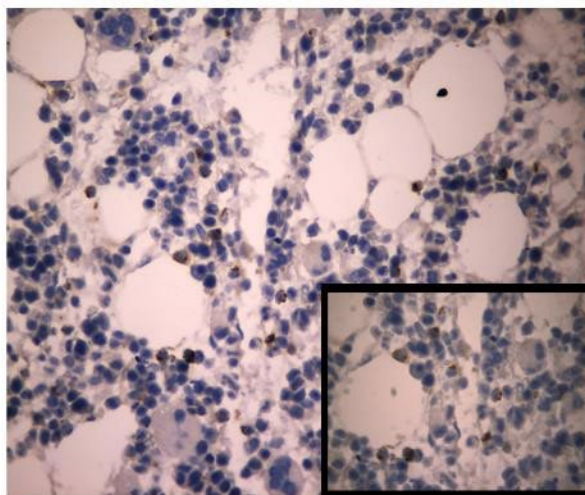
**Figura 3.** Células linfoides de tamaño mediano con núcleos irregulares, dispersas y en pequeños grupos (flechas verdes, H&E, 600X).



**Figura 4.** Expresión de CD56 en células linfoides de tamaño mediano (Inmunohistoquímica CD56, 400X).



**Figura 5.** Expresión citoplasmática de Granzima B con patrón granular. (Inmunohistoquímica con Granzima B, 400X, inserto con aceite de inmersión, 1000x.)



(MO) se encuentran en mayor proporción las células NK CD56<sup>+dim</sup> (90% del total de las células NK). Es actualmente aceptado que, bajo la influencia de estímulos adecuados, las células NK CD56<sup>+bright</sup> se diferencian a células NK CD56<sup>+dim</sup>. Se ha propuesto que en esta diferenciación ocurre una disminución gradual en la expresión de CD94 y la adquisición de los receptores de tipo inmunoglobulina de las células NK (KIRs)<sup>(2-4)</sup> (Tabla 1).

Las células NK halladas en SP de pacientes con infecciones crónicas son CD56<sup>+dim</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD2<sup>+bright</sup> y expresan niveles bajos y heterogéneos de CD7 y CD38, niveles altos de CD57 y menor expresión de CD11c que la observada en las células NK CD56<sup>+dim</sup> de SP de dadores sanos<sup>(2)</sup> (Tabla 2).

En la mayoría de las series de pacientes con ANKL

y linfoma NK extranodal (ENKL), típicamente se encuentra que CD56 está expresado de manera intensa, CD16 puede ser débil y variable (una considerable proporción de casos son negativos) y se observa pérdida total o parcial de CD7. Granzima B y perforina generalmente son positivas, lo que demuestra su naturaleza citotóxica, aunque CD57 es negativo. La expresión de HLA-DR, CD45RO y CD45RA se observa en la mayoría de los casos cuando han sido ensayados. Este patrón de expresión es similar al encontrado en las células NK reactivas de pacientes con infecciones virales o enfermedades tumorales. La misma observación puede ser aplicada al patrón de expresión CD11c, que cuando se encuentra expresado es débil y heterogéneo. La pérdida de CD7 en la mayoría de las células tumorales

también podría resultar de la activación, ya que en células NK activadas crónicamente, su expresión es también débil y heterogénea (Tabla 2). El receptor de tipo lectina CD94 se encontró expresado en la mayoría de las ANKL y ENKTL<sup>(2)</sup>.

Dado que la ANKL y el ENKTL se originan a partir de células NK transformadas y usualmente infectadas con EBV, es esperable que el inmunofenotipo hallado en estas entidades sea el de "células NK activadas". Además, de acuerdo con los inmunofenotipos de las distintas series, es probable que el origen de estas células activadas sea una célula NK CD56<sup>+</sup>bright,

y esto podría justificar en parte la hepatoesplenomegalia, la insuficiencia hepática y la invasión de otros órganos observados en la ANKL, ya que el patrón de expresión de los receptores de citoquinas (CKR) hallados en las células tumorales de la ANKL son similares al de las células normales NK CD56<sup>+</sup>bright. Dicho patrón de CKR permiten a estas células migrar a tejidos periféricos en condiciones de inflamación crónica<sup>(2)</sup>.

En el caso presentado las células NK identificadas como aberrantes fueron CD56<sup>+</sup>bright, CD16<sup>-</sup>, CD94<sup>++</sup>, CD57<sup>-</sup> y fueron identificadas por la pérdida de

**Tabla 1.** Principales características de las subpoblaciones de células NK

Células NK	CD56 <sup>+</sup> dim CD16 <sup>+</sup>	CD56 <sup>+</sup> bright CD16 <sup>-/+dim</sup>
Función	Citotóxicas	Inmunorreguladoras
Distribución	SP, MO y bazo	Órganos linfoides secundarios
Inmunofenotipo	CD2 <sup>+</sup> (unas pocas CD2 <sup>-</sup> )	CD2 <sup>+</sup>
	CD7 <sup>+</sup> bright	CD7 <sup>+</sup> bright
	CD5 <sup>-</sup>	CD5 <sup>-</sup>
	CD8 <sup>-/+dim</sup>	CD8 <sup>-/+dim</sup>
	CD38 <sup>+</sup>	CD38 <sup>+</sup>
	CD45RA <sup>+</sup> bright	CD45RA <sup>+</sup> bright
	KIR <sup>+</sup>	KIR <sup>-</sup>
	CD45RO <sup>-</sup>	CD45RO <sup>-</sup>
	HLA-DR <sup>-</sup>	HLA-DR <sup>-</sup>
	CD26 <sup>-</sup>	CD26 <sup>+</sup>
	CD11c heterogéneo y variable	CD11c <sup>++</sup>
	CD94 heterogéneo y variable	CD94 <sup>++</sup>
CD57 heterogéneo y variable	CD57 <sup>-</sup>	

**Tabla 2.** Principales características de las células NK activadas

NK recientemente activadas (infecciones agudas)	NK activación tardía (infecciones crónicas)
CD56 <sup>+</sup> dim CD16 <sup>+</sup>	CD56 <sup>+</sup> dim CD16 <sup>+</sup>
Patrón de expresión CD7/CD2 similar al observado en células NK CD56 <sup>+</sup> dim normales	CD2 <sup>+</sup> bright y niveles bajos (y heterogéneos) de CD7
CD38 <sup>+</sup>	Bajos niveles (y heterogéneos) de CD38
CD45RA <sup>+</sup>	
Fración elevada de células NK CD45RO <sup>+</sup> y/o HLA-DR <sup>+</sup>	
CD11c <sup>+</sup> dim	CD11c <sup>-/+</sup>
CD57 <sup>-</sup>	CD57 <sup>+</sup> bright

expresión de CD7 y la expresión débil de CD2. Las células demostraron tener un fenotipo “activado” (HLA-DR<sup>+</sup> CD7<sup>-/+heterog.</sup>) y citotóxico (granzima B<sup>+</sup>), semejante a lo descrito en la literatura. La expresión intensa de CD56, la positividad para CD94 y la ausencia de expresión de CD16 y CD57 avalan lo propuesto en la literatura, que la contrapartida normal de estas células neoplásicas podrían ser las células NK CD56<sup>bright</sup>.

La transformación a ANKL de los procesos linfoproliferativos T/NK asociados a EBV de la infancia, como la infección crónica activa de células T/NK por EBV, es particularmente propensa a ocurrir en pacientes jóvenes<sup>(5)</sup>.

Debe mencionarse que, si bien la asociación entre ANKL y la infección por EBV es bien establecida, también es reconocida la ANKL negativa para EBV. En contraste con la ANKL EBV-positiva, los casos de ANKL EBV-negativa se observan más frecuentemente en pacientes de edad avanzada. La sospecha de ANKL no debería descartarse por el estatus EBV-negativo si el cuadro clínico, los hallazgos inmunofenotípicos y morfológicos avalan este diagnóstico. No se han observado diferencias fenotípicas ni morfológicas en las ANKL EBV-positivas versus las EBV-negativas<sup>(6,7)</sup>.

En el análisis citogenético convencional se han reportado pocas alteraciones, las más comúnmente reportadas incluyen del (6)(q21q25) y del(11q)<sup>(7)</sup>.

Los avances en los métodos de secuenciación masiva han proporcionado información valiosa para poder comprender la patogenia molecular de la enfermedad. Las mutaciones más comúnmente reportadas son las que implican a la vía de señalización JAK/STAT. Otras alteraciones reportadas han sido en la vía RAS/MAPK, así como mutaciones en reguladores epigenéticos y reguladores del ciclo celular como TP53. Estos hallazgos representan potenciales dianas terapéuticas para la enfermedad<sup>(6,7)</sup>.

Las células NK expresan altas concentraciones de glicoproteína P, lo que confiere resistencia a múltiples fármacos. En la actualidad no se ha establecido un régimen óptimo de quimioterapia, pero se ha visto que los resultados han mejorado con los esquemas que contienen L-asparaginasa<sup>(8)</sup>, incluido el esquema SMILE, VIDL, AspMetDex. El esquema GDP mostró ser eficaz en ciertos pacientes con ANKL<sup>(7,9)</sup>. A pesar de esto, el pronóstico continúa siendo pobre y la respuesta usualmente es transitoria. El trasplante

allogénico de células hematopoyéticas puede ayudar a prolongar la sobrevida, pero tiene un éxito limitado, más de la mitad de los pacientes recaen con la enfermedad<sup>(7,9)</sup>.

Esta neoplasia de células NK maduras es de curso clínico agresivo y de muy mal pronóstico.

A su vez, el síndrome hemofagocítico (SHF), frecuentemente presente en los pacientes con ANKL, es un síndrome potencialmente mortal, caracterizado por una activación incontrolada y persistente de linfocitos T citotóxicos y células NK. La incapacidad del huésped de remover el estímulo antigénico resulta en una respuesta inmune constante y amplificada, con liberación de citoquinas proinflamatorias que resultan en niveles altos de activación de macrófagos con hemofagocitosis resultante, daño tisular y falla orgánica<sup>(5)</sup>.

### Conclusión

Las neoplasias de células NK son poco frecuentes, de curso clínico agresivo y aún no se conoce con precisión el origen celular de su contrapartida normal. Aunque no es posible demostrar clonalidad de las células NK por citometría de flujo multiparamétrica, se destaca la importancia de esta técnica que permite identificar, caracterizar y cuantificar las células NK con expresión aberrante de antígenos que, en el caso clínico presentado, ayudaron a direccionar rápidamente el diagnóstico.

Cabe destacar que la causa más común de SHF secundario en adultos son las enfermedades malignas y, de ellas, las hematológicas son disparadores mucho más frecuentes que los tumores sólidos<sup>(5)</sup>, por lo que, frente a un SHF, los procesos linfoproliferativos deben ser una de las primeras causas a descartar. La CFM es una herramienta fundamental y presenta varias ventajas para alcanzar este objetivo: rapidez, sensibilidad y especificidad.

### Agradecimientos

Al Dr. Norberto Zwirner, director del Laboratorio de Fisiopatología de la Inmunidad Innata del Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME), por su aporte desinteresado y enriquecedor y corrección del manuscrito; a la Dra. Erica Rojas Bilbao del Departamento de Patología del Instituto de Oncología Ángel H. Roffo, por su gran aporte desinteresado que contribuyó al diagnóstico; al Dr. Diego Rosso, jefe del Departamento de Pediatría de nuestro hospital.

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

### Referencias

- Ishida F. Aggressive NK-Cell Leukemia. *Front Pediatr.* 2018; 6:292.
- Lima M. Extranodal NK/T cell lymphoma and aggressive NK cell leukaemia: evidence for their origin on CD56+bright CD16-/dim NK cells. *Pathology.* 2015; 47(6):503-514.
- Caldirola MS, Rodriguez Broggi MG, Gaillard MI, Bezrodnik L, Zwirner NW. Primary Immunodeficiencies Unravel the Role of IL-2/CD25/STAT5b in Human Natural Killer Cell Maturation. *Front Immunol.* 2018; 9:1429.
- Domaica CI, Fuertes MB, Uriarte I, Girart MV, Sardanons J, Comas DI et al. Human Natural Killer Cell Maturation Defect Supports In Vivo CD56(bright) to CD56(dim) Lineage Development. *PLOS One.* 2012;7:e51677.
- Al-Samkari H, Berliner N. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Annu Rev Pathol. Mech. Dis.* 2018;13:1.1-1.23
- El Hussein et al. Genomic and Immunophenotypic Landscape of Aggressive NK-Cell Leukemia. *Am J Surg Pathol.* 2020; 44:1235-1243.
- El Hussein, Siba et al. Aggressive NK Cell Leukemia: Current State of the Art. *Cancers (Basel).* 2020 Oct 9;12(10):2900.
- Hue et al. Epstein-Barr virus-associated T- and NK-cell lymphoproliferative diseases: an update and diagnostic approach. *Pathology.* 2020;52(1),111-127.
- Zhang Y, Lee D, Gesiotto Q, Sokol L. Aggressive natural killer cell leukemia: diagnosis, treatment recommendations, and emerging therapies. *Expert Rev Hematol.* 2021 Aug;14(8):731-740.
- Bárcena P, Vidriales MB, Lima M, van Dongen J, Orfao A. Phenotypic profile of expanded NK cells in chronic lymphoproliferative disorders: a surrogate marker for NK-cell clonality. *Oncotarget.* 2015 Dec 15;6(40):42938-51.
- Tse and Kwong. The diagnosis and management of NK/T-cell lymphomas. *Journal of Hematology & Oncology.* (2017;10:85.
- Jin Z, Wang Y, Wang J, Wu L, Pei R, Lai W, Wang Z. Multivariate analysis of prognosis for patients with natural killer/T cell lymphoma-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Hematology.* 2018 May;23(4):228-234.
- Yamashita Y et al. Identification of a novel CCDC22 mutation in a patient with severe Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis and aggressive natural killer cell leukemia. *Int J Hematol.* 2019; 109(6):744-750.
- Michel T et al. Human CD56bright NK Cells: An Update. *J Immunol.* 2016, 196: 2923-2931.
- Swerdlow SH et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood.* 2016; 127(20):2375-2390.
- van Dongen JJM et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia.* 2012;26, 1908-1975.
- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2017.
- Abbas A, Lichtman A, Pillai S. *Inmunología Celular y Molecular.* 8° ed., 2015.



**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.

# Reacción leucoeritroblástica en pacientes con enfermedad por COVID-19

## Leukoerythroblastic reaction in patients with Coronavirus disease

Osycka V, Sepe L, Cicchini S, Domínguez Pose L, López I

<sup>1</sup> Servicio de Hematología, Hospital B.A. Houssay, Vicente López, Buenos Aires, Argentina CP 1638

hematologia.houssay@gmail.com

Fecha recepción: 26/11/2021  
Fecha aprobación: 13/12/2021



COMUNICACIÓN  
BREVE

HEMATOLOGÍA  
Volumen 25 n° 3: 79-83  
Septiembre - Diciembre 2021

**Palabras claves:** RLE,  
COVID-19,  
citocinas.

**Keywords:** LER,  
COVID-19,  
cytokines.

### Resumen

Desde el brote de coronavirus en 2019 (COVID-19) numerosos estudios se han puesto en marcha para conocer su fisiopatología. Los pacientes críticamente enfermos constituyen un 5% del total y tienen una mortalidad del 1-4% por neumonía y fallo multiorgánico. Estos pacientes desarrollan shock por liberación de citocinas, llamada "tormenta de citoquinas". El objetivo de la presentación es describir el hallazgo de reacción leucoeritroblástica (RLE) en tres pacientes internados en nuestro hospital, de los cuales sólo uno tuvo enfermedad severa por COVID-19.

### Abstract

Since Coronavirus 19 SARS-CoV2 outbreak, numerous studies were turned on to launch its patho-

physiology. Critically ill patients, who are 5% of the total, have 1-4% of mortality, due to pneumonia and multiorgan failure. Those patients develop shock related to cytokines release, named "cytokine storm". Our purpose is to describe the finding of leukoerythroblastic reaction (LER) in three patients admitted to our hospital, while only one had severe COVID disease.

### Introducción

La infección causada por el CoronaVirus-19 se expresa con cuadro leve de vías aéreas superiores o cuadro grave con neumonía, y, en casos severos, con síndrome respiratorio agudo severo (SARS). Los estudios hematológicos pusieron enfoque en los trastornos trombóticos asociados a la lesión infla-

matoria causada por COVID-19. También, en menor medida, ha sido reportada en la literatura la observación en sangre periférica (SP) de reacción leucoeritroblástica (RLE) en 3 publicaciones<sup>(1-3)</sup>. El término RLE se introdujo para describir la presencia de elementos inmaduros de estirpe mieloide y células eritroides nucleadas en SP<sup>(4)</sup>. El mecanismo fisiopatológico preciso de la RLE aún no está descrito en detalle<sup>(5)</sup>. En este artículo presentamos el hallazgo de estos precursores en SP en tres pacientes internados en nuestro hospital, que cursaron infección por COVID-19.

### Caso clínico

A. Paciente masculino de 23 años que consulta al hospital por presentar petequias. En el hemograma presenta Hb 13.1 g/dl, glóbulos blancos (GB) 9.300/mm<sup>3</sup> con relación neutrófilos linfocitos (RNL) 9.09, recuento de plaquetas menor a 10.000/mm<sup>3</sup>, PCR negativa y COVID-19 positivo. Recibe meprednisona 1 mg/kg/día, sin cuadro infeccioso bacteriano u otro cuadro viral asociado.

No presenta antecedentes de enfermedades previas. Al 5° día de internación presenta GB 15.100/mm<sup>3</sup> con RNL 10.4 y plaquetas 21.000/mm<sup>3</sup>. Al 9° día GB

35.100/mm<sup>3</sup> y presencia de blastos 5% con RNL 24. Se realizan estudios de citometría de flujo y biopsia de MO, con resultados normales.

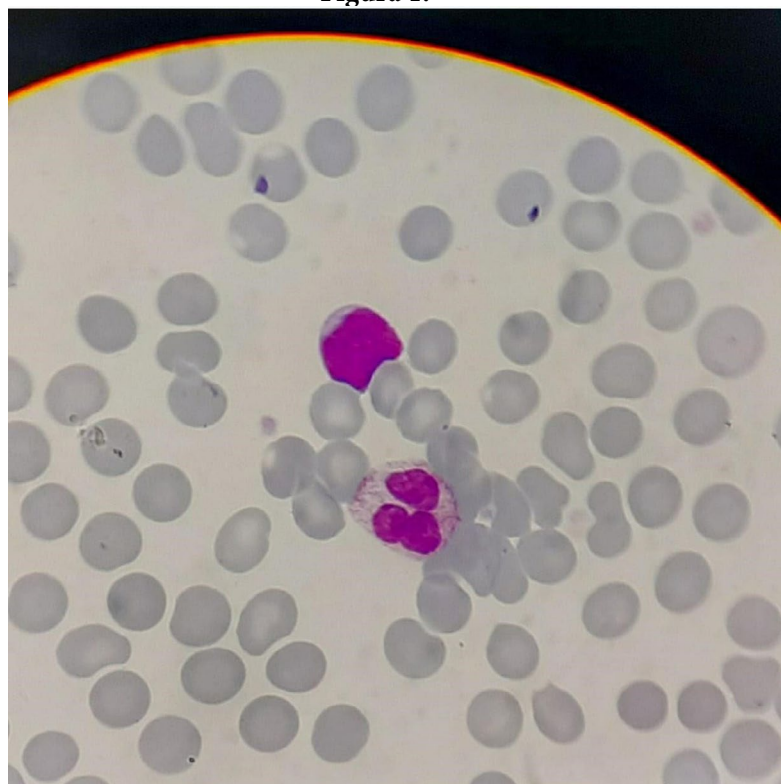
Al 12° día de internación se normalizan los GB, como así también la RNL.

El diagnóstico es PTI por COVID-19, Continúa en tratamiento ambulatorio con meprednisona y eltrombopag 50 mg día. Recibe alta con plaquetas 52.000/mm<sup>3</sup>.

Dos meses después mantiene plaquetas 100.000/mm<sup>3</sup> sin volver a repetir presencia de blastos en SP (Figura 1).

B. Paciente masculino de 34 años que se presenta en hospital con fiebre persistente y disnea. Laboratorio Hb 14 g/dl. GB 8500/mm<sup>3</sup> y RNL 8.7. Rx de tórax infiltrado bilateral, neumonía y PCR COVID-19 positivo. En internación recibe dexametasona, enoxaparina y soporte de O<sub>2</sub>. A los 7 días presenta GB 17.100/mm<sup>3</sup> con blastos 2%, al día siguiente GB 22.800/mm<sup>3</sup> con blastos 1% y progresa a GB 25.500/mm<sup>3</sup> con 2% blastos y 2% de eritroblastos. Alta al día 14 de internación sin sobreinfección bacteriana. Control post alta a los 9 días, GB 6.900/mm<sup>3</sup> con RNL 2.78 sin blastos (Figuras 2 y 3).

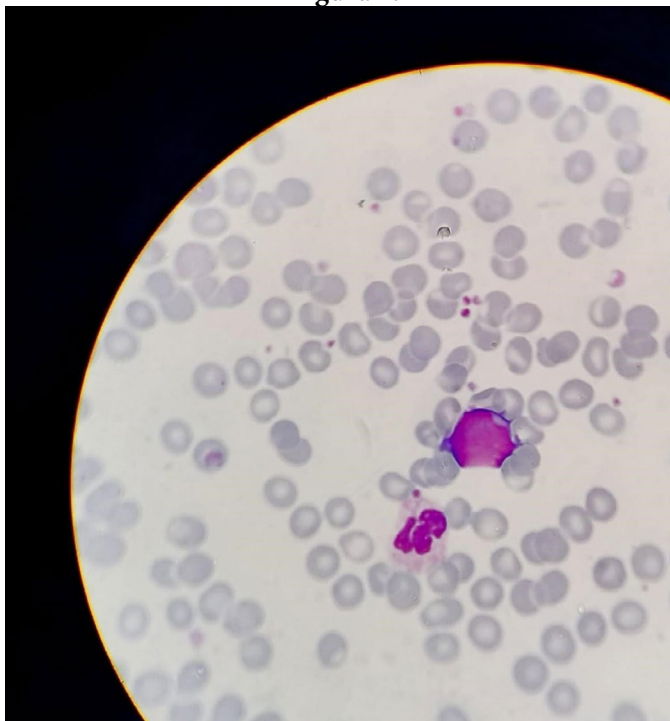
Figura 1.



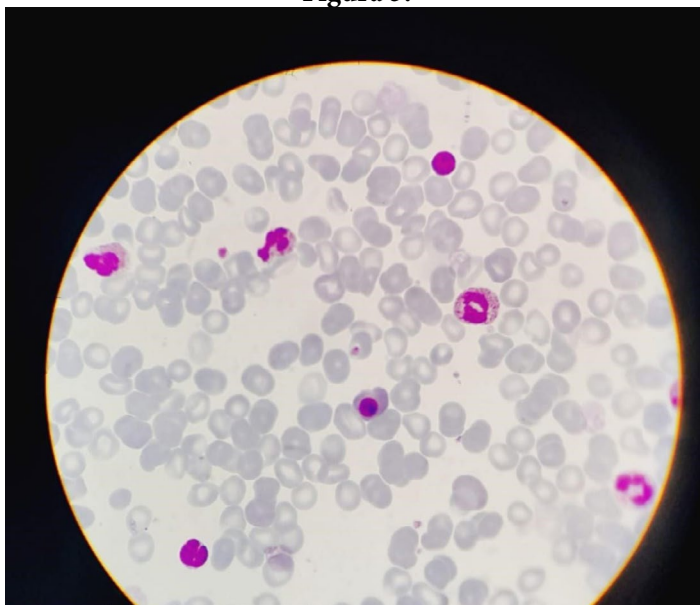
C. Paciente femenina de 78 años con antecedentes de EPOC (ex tabaquista), COVID-19 positivo, que ingresa por dificultad respiratoria. Rx tórax: infiltrados bilaterales en vidrio esmerilado. Neumonía severa. Se indica dexametasona y HBPM. Al ingreso GB 9.800/mm<sup>3</sup> con RNL 1.77. A las 48 hs pasa a UTI. Al 12º día presenta GB

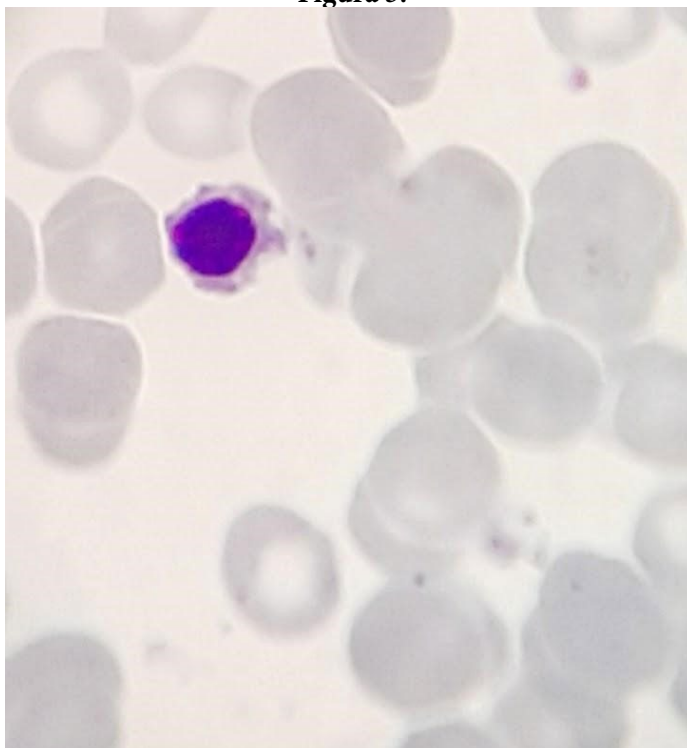
30.600/mm<sup>3</sup> con blastos 8% y 3% de eritroblastos. El nivel de GB se mantiene por 7 días más, con presencia sostenida de blastos en SP. La paciente evoluciona con un neumotórax y a los 35 días de su ingreso fallece por un paro cardiorrespiratorio. Los últimos controles de laboratorio registran GB 9.500/mm<sup>3</sup> sin blastos (Figuras 4 y 5).

**Figura 2.**



**Figura 3.**



**Figura 4.****Figura 5.**

### Discusión

Se desconoce el mecanismo exacto de la RLE. Se presenta en diferentes escenarios, siendo entre los más relevantes la manifestación en pacientes con neoplasias sólidas (40.1%), dada a la producción paraneoplásica de factor estimulante de colonias (G-CSF y GM-CSF) y otras citoquinas como IL-6 o IL-17. Se describe su correlación al pronóstico del tumor<sup>(6)</sup>. El resto de las etiologías donde puede presentarse RLE

son neoplasias hematológicas (22.5%), trastornos hemolíticos (7.6%), hemorragias (1.2%) e infecciones severas bacterianas y causas virales descritas que pueden producir RLE (CMV, EBV y parvovirus, H1N1, etc. que, además, generan linfopenia) (9,3%). Dentro del 19.2% restante está la secundaria a fármacos, que es idiosincrática, por ejemplo, los corticoides<sup>(7)</sup>. Fisiopatológicamente se describe en la anemia hemolítica o en el shock la hipoperfusión de

áreas de la médula ósea (MO) generada por anemia hemolítica o shock (séptico, anafiláctico, cardiogénico) que interrumpe el microambiente generando la salida desordenada de células precursoras.

Hasta el momento se sabe que la glicoproteína S de la espícula de la superficie viral se une a la enzima ACE2 para ingresar a las células, y que ACE2 se expresa también en los glóbulos rojos y diversos precursores eritroides, así como también en células pulmonares y endoteliales<sup>(8)</sup>. Esta unión recluta monocitos, macrófagos y células dendríticas. Este enlace virus-receptor induce la generación de IL6 y otras citoquinas (TNF alfa, IL1, GCSF, IFN gamma, proteína quimiotáctica de monocitos, proteína inflamatoria de macrófagos), pudiendo generar la salida de precursores a SP.

### Conclusión

Presentamos en este reporte tres pacientes con COVID-19, con o sin neumonía severa, que exhiben RLE en SP. Sólo uno presentó cuadro compatible con sepsis y/o falla multiorgánica secundaria

a neumonía. Los tres casos recibieron corticoides. La duración de la presencia de blastos en SP no fue superior a una semana en ningún caso. Los corticoides se continuaron como tratamiento específico del COVID-19 y comorbilidades asociadas, lo cual lleva a pensar que la RLE estuvo vinculada a la viremia del COVID-19 más que a otras causas. Las características de los blastos eran francamente aberrantes.

Consideramos de importancia la revisión del frotis en pacientes con COVID-19 y la necesidad de estudiar con prudencia la presencia de estos elementos para diferenciar leucocitosis reactiva con cuadro de RLE vs proliferación clonal leucémica, ya que no se vio como indicador de pronóstico ominoso (como en patologías oncológicas u otras causas).

La RLE es infrecuente en cuadros virales y secundarios a fármacos, lo cual motivó la descripción de casos de pacientes con este nuevo virus.

### Agradecimientos

Farm. Laura Pérez, Bioq. Joana Fermoselle, Tec. Carola Trombetta, Tec. Antonella Chittaro

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

### References

- Mitra A, Dwyre DM, Schivo M, Thompson GR 3rd, Cohen SH, Ku N, Graff JP. Leukoerythroblastic reaction in a patient with COVID-19 infection. *Am J Hematol.* 2020 Aug;95(8):999-1000.
- Milanesio, M. Reacción leucoeritroblástica asociada a infección por COVID-19. Reporte de caso. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas (Córdoba, Argentina)* 2021, Marzo.78, 64-67-
- Jones JR, Ireland R. Morphological changes in a case of SARS-CoV-2 infection. *Blood.* 2020 Jun 18;135(25):2324.
- Retief, F. Leukoerythroblastosis in the adult. *The Lancet.* 1964 March 21;283:639.
- Byard RW, Bormanis J, Jones TG. Leukoerythroblastosis: a much maligned phenomenon? *CMAJ.* 1987 Aug 1;137(3):191-2.
- Hoffman, R. *Hematology Basic Principles and Practice.* Seventh Edition. Chapter 48.
- Tabares Calvache E. Systematic review about etiologic association to the leukoerythroblastic reaction. *Int J Lab Hematol.* 2020;42: 495-500.
- Shahbaz S. Erythroid precursors and progenitors suppress adaptive immunity and get invaded by SARS-CoV-2. *Stem Cell Reports.* 2021 May 11; 16 (5): 1165-1181.



**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.

# Síndrome "stroke-like" en leucemia linfoblástica aguda pediátrica

## Stroke-like syndrome in acute pediatric lymphoblastic leukemia

Ferraro CL, Soria ME, Morán LE, Prada S, Palomar N, Escobar N, Manente R, Schwalb G, Wittmund L, Gutiérrez ME, Basack N, Attie M, Drelichman G.

Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez

crislucianaferraro@hotmail.com  
leucemia.linfomas@gmail.com

Fecha recepción: 2/12/2021  
Fecha aprobación: 13/12/2021



PEDIATRÍA

HEMATOLOGÍA

Volumen 25 n° 3: 84-88  
Septiembre - Diciembre 2021

**Palabras claves:** leucemia, síndrome "stroke like", pediatría.

**Keywords:** leukemia, stroke like syndrome, pediatrics.

### Introducción

Las leucemias agudas representan el cáncer más frecuente en la edad pediátrica tanto en Argentina como en el resto del mundo. El tratamiento de esta enfermedad es una de las principales causas de morbilidad relacionada con el cáncer en niños.

Su tratamiento consiste en distintas combinaciones de poliquimioterapia, siendo el MTX uno de los pilares del mismo, con capacidad de atravesar tanto la barrera hematoencefálica (BHE) como la hematotesticular (BHT), llegando así al SNC y testículos. A su vez, es conocida la neurotoxicidad aguda, subaguda y crónica relacionada al mismo. Dicha neurotoxicidad se expresa con una gran variabilidad clínica, tal como la trombosis venosa (asociada al uso de L-asparaginasa) y la leucoencefalopatía posterior reversible (LEPR). Existe otra entidad cuyo diagnóstico diferencial se balancea entre estas dos, conocida como síndrome "stroke like" por MTX, en el cual el paciente habitualmente se presenta con un cuadro

clínico compatible con un accidente isquémico vascular transitorio, variando la clínica según el área afectada<sup>(1)</sup>.

Desde diciembre del 2002 hasta diciembre del 2020 ingresaron a la Unidad de Hematología del Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez 432 pacientes con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda. La incidencia acumulada del síndrome "stroke like" en el servicio fue de 0.46%. El objetivo de esta publicación es presentar dos casos clínicos de síndrome "stroke like" por MTX, enfatizando la importancia de realizar un diagnóstico oportuno a fin de poder descartar otras etiologías que requerirían un abordaje terapéutico distinto.

### Caso 1

Paciente de 17 años, sexo masculino con antecedente desde los 14 años de artritis idiopática juvenil (AIJ). Por cuadro de fiebre, palidez generalizada y adenopatías submaxilares se le realiza hemograma que

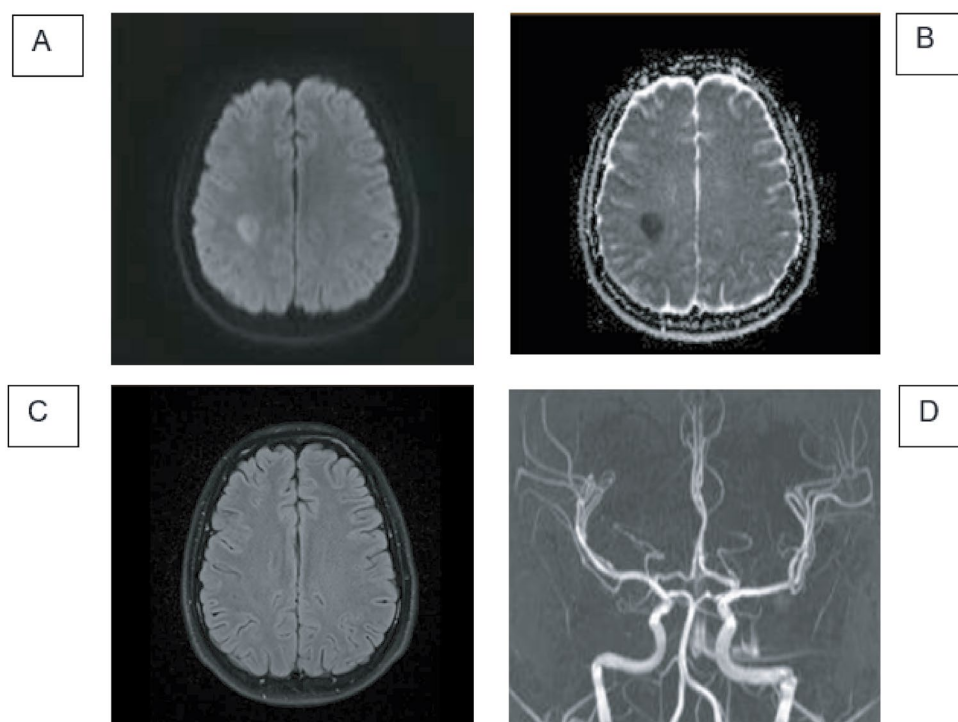
informa hemoglobina de 6.4 mg/dL, 8.810 glóbulos blancos/mm<sup>3</sup> con 86% de blastos y 24.000 plaquetas/mm<sup>3</sup>. En la citometría de flujo de la médula ósea se observa: 92% de células leucémicas con un patrón CD45-, CD19+, CD34+- (45%), Tdt +, CD10+, CD20+, CD38+, CD123-, CD79a+, Igcit-, Igsup-, CD33-, CD13-, MPO-. CD66c-, CD3cit- y CDsup-. Estudio citogenético sin metafases. Biología molecular: BCR-ABL p190 y p210, TEL-AML, MLL-AF9 y E2A-PBX1 negativas. Se confirma diagnóstico de LLA B común riesgo intermedio, status I de SNC. Realiza tratamiento según protocolo ALLIC- GAT-LA 2010.

Luego de 7 días de recibida la cuarta dosis de MTX a 2 g/m<sup>2</sup> en infusión continua de 24 horas e infusión intratecal de MTX 12 mg con dexametasona acorde a esquema, el paciente presenta parestesias en hemi-cuerpo izquierdo, lúcido orientado, afebril, con tono y fuerza conservados y sin evidencia de alteración de la sensibilidad. Hemograma con hemoglobina 13.2 mg/dL, glóbulos blancos 4.100/mm<sup>3</sup> y plaquetas

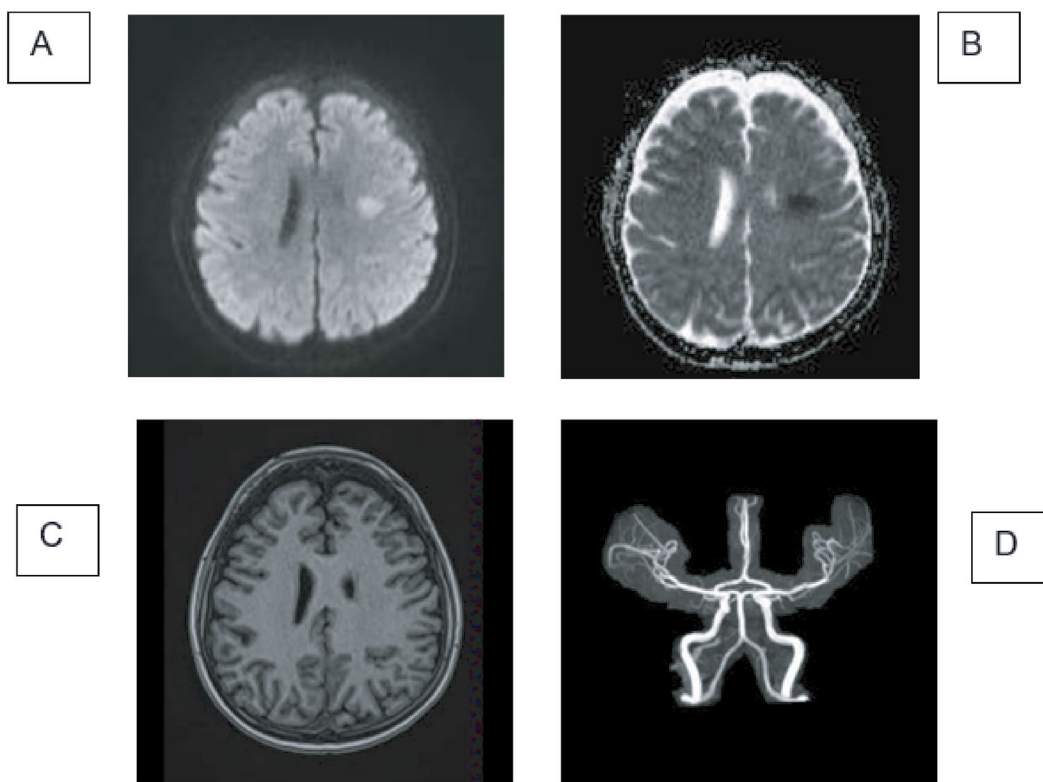
66.000/mm<sup>3</sup>, laboratorio completo sin parámetros de relevancia (coagulograma normal, fibrinógeno 280 mg/dl, con PDF y dímero D normales).

Se realiza RNM de cerebro que evidencia en la sustancia blanca profunda de lóbulo parietal derecho un área ovalada bien circunscrita de restricción en la técnica de difusión. Dicha lesión se muestra hipointensa en el coeficiente de difusión aparente (ADC) y carece de expresión en técnica de FLAIR, sin otros cambios de relevancia. En angioRNM de vasos intracerebrales no se evidencia compromiso vascular, trombosis o estenosis en vasos de mediano y gran calibre (Figura 1).

A las 24 hs de iniciado, el cuadro evoluciona con resolución completa de la sintomatología sin secuelas. Durante la reinducción y el mantenimiento continúa con infusión intratecal de MTX sin presentar nuevos eventos. Actualmente se encuentra en etapa de mantenimiento con mercaptopurina y MTX vía oral sin secuelas ni complicaciones.



**Figura 1.** En la imagen A) se evidencia área ovalada bien circunscrita en región parietoccipital derecha de restricción en la técnica de difusión, dicha lesión se muestra en la imagen B) correspondencia hipointensa en el coeficiente de difusión aparente (ADC), que carece de expresión en técnica de FLAIR de la imagen C). En angioRNM de vasos intracerebrales de imagen D) no se evidencia compromiso vascular, trombosis o estenosis en vasos de mediano y gran calibre.



**Figura 2.** En la imagen A) se evidencia área ovalada bien circunscrita en región parietal izquierda de restricción en la técnica de difusión, dicha lesión se muestra en la imagen B) correspondencia hipointensa en el coeficiente de difusión aparente (ADC), que carece de expresión en técnica de FLAIR de la imagen D). En angioRNM de vasos intracerebrales de imagen D) no se evidencia compromiso vascular, trombosis o estenosis en vasos de mediano y gran calibre

### Caso 2

Paciente de sexo masculino de 10 años de edad con diagnóstico de LLA T riesgo intermedio, status 1 de SNC y antecedente de hiperleucocitosis y compromiso mediastinal al debut. Citogenético normal. Biología molecular: BCR-ABL p190 y p210, TEL-AML, MLL-AF9 y E2A-PBX1 negativos. Realiza protocolo ALLIC- GATLA 2010.

Luego de ocho días de haber recibido la cuarta dosis de MTX a 5 g/m<sup>2</sup> en infusión de 24 horas acompañado de aplicación intratecal de 12 mg de MTX con dexametasona acorde a esquema, presenta episodio de disartria transitoria con recuperación *ad integrum* en 24 hs. Se realiza RMN que evidencia en secuencia de difusión un área bien circunscrita de restricción, hipointensa en mapa ADC, correspondiente en la sustancia blanca profunda de la circunvolución precentral izquierda. La imagen se corresponde a edema citotóxico por evento isquémico, no

evidenciándose trombosis, estenosis ni aneurismas en angioRNM (Figura 2).

Evoluciona con reagudización del cuadro, con afasia y hemiparesia braquiocrural derecha. Se realiza tomografía computarizada (TAC) de cerebro que descarta componente hemorrágico. Inicia manejo con heparina de bajo peso molecular (HBPM) a 110 U/kg, hasta corroborar informe definitivo de angioRNM. Ecocardiograma doppler cardíaco y de vasos de cuello, hemograma y coagulograma dentro de límites normales. A las 48 horas presenta resolución completa de la sintomatología, con recuperación *ad integrum* y examen neurológico normal, suspendiendo luego la HBPM.

Durante la reinducción y el mantenimiento continúa con infusión intratecal de MTX sin presentar nuevos eventos. Actualmente se encuentra en etapa de mantenimiento con mercaptopurina y MTX vía oral sin secuelas ni complicaciones.

## Discusión

Tanto el SNC como los testículos representan un santuario para las células leucémicas debido a la penetración limitada de las distintas drogas anti-neoplásicas sistémicas a través de la BHE y BHT. La concentración insuficiente a la que se llega en SNC explica por qué, en ausencia de una profilaxis intratecal (IT) adecuada, existe un riesgo aumentado de recaída local<sup>(2)</sup>.

Desde principios de los años 80, el uso de MTX intratecal ha sido la terapia estándar en la LLA. Administrado por vía intravenosa e intratecal, ha reemplazado el uso de radioterapia craneal en el tratamiento y como profilaxis en la leucemia sin afectación del SNC, disminuyendo el riesgo de recaída local<sup>(3)</sup>.

El MTX es un antagonista del ácido fólico. La estructura química de éste es muy similar a la del MTX, salvo en 2 puntos: el grupo 4 hidroxilo del anillo pteridínico del ácido fólico se reemplaza por un grupo amino y el nitrógeno de la posición 10 está metilado en el MTX. Esto le confiere mayor afinidad por la enzima dihidrofolato reductasa, encargada de transformar el ácido dihidrofólico en tetrahidrofólico, elemento que se ve reducido en cantidad debido al bloqueo reversible producido en esta enzima. En consecuencia, se genera una incapacidad celular para sintetizar purinas y timidina, interrumpiendo la síntesis de ADN y ARN. Sumado a esto, el MTX intracelular detiene la síntesis de purinas al bloquear la 5-aminoimidazol-4-carboxamida ribonucleótido transformilasa. De esta forma se produce un arresto madurativo en fase S, limitando el proceso de proliferación celular<sup>(4)</sup>. La neurotoxicidad por MTX es un efecto adverso frecuente con gran variabilidad clínica en su forma de presentación. La administración intratecal de metotrexato parece tener más potencial neurotóxico que la administración intravenosa a dosis altas<sup>(5)</sup>.

La patogénesis de la neurotoxicidad central del MTX es multifactorial, pero su relación con la homeostasis del folato a nivel del SNC es conocida. El uso de rescates con ácido fólico ha demostrado disminución de la toxicidad en los pacientes que reciben esta droga. Sin embargo, también se han descrito niveles elevados de homocisteína en plasma y LCR. Al ser un agonista de los receptores N-metil-d-aspartato (NMDA), presenta efecto de excitación neuronal.

Al momento se desconoce la existencia de una relación clara entre la forma de administración del

fármaco y el desarrollo de neurotoxicidad, como así tampoco el por qué algunos pacientes vuelven a presentar clínica frente a la reexposición. Podrían existir polimorfismos genéticos que le confieren al paciente una susceptibilidad individual para el desarrollo de esta patología. Variantes en *GSTP1*, *MTHFR* y *SHMT1* han sido estudiadas pero aún no se han realizado estudios de asociación genómica con genoma o exoma completo<sup>(1)</sup>.

Las características clínicas pueden presentarse en forma aguda, subaguda o crónica<sup>(2)</sup>. La neurotoxicidad crónica, o tardía, puede manifestarse como leucoencefalopatía tóxica de expresión variable y estable a lo largo del tiempo. La aguda y subaguda usualmente se manifiestan de horas a semanas posteriores a la administración intratecal. Los síntomas de estas dos últimas incluyen cefalea, mareos, trastornos conductuales, convulsiones, déficit neurológico y síntomas tipo "stroke like"<sup>(6)</sup>.

El síndrome "stroke like" se caracteriza por ser de presentación subaguda. Típicamente incluye hemiparesia o debilidad focal acompañada de trastornos del habla y/o conductuales. Dichos síntomas pueden fluctuar en el curso de horas a días<sup>(2)</sup>. Sin embargo, a lo largo de las últimas décadas y coincidente con el advenimiento de la intensificación del tratamiento en la LLA, se ha reconocido la necesidad de unificar criterios diagnósticos y consensuar definiciones de los efectos tóxicos más frecuentemente asociados a estos regímenes de tratamiento. Por este motivo, el grupo de trabajo de Ponte Di Legno, definió al síndrome "stroke like" secundario a MTX como un síndrome en el que la neurotoxicidad ocurre dentro de los 21 días de la administración intravenosa o intratecal de MTX y debe incluir las siguientes 3 características: **signos clínicos de déficit neurológico** (paresia o parálisis), **afasia o disartria, alteración del sensorio y/o convulsiones** (ésta última siempre acompañada de al menos uno de los otros síntomas). Cambios característicos en sustancia blanca se encuentran en la resonancia magnética (RM). El curso clínico es fluctuante, con resolución completa de los mismos al cabo de, en promedio, una semana, habiéndose descartado otras etiologías posibles como infarto cerebral, hemorragia intracranial y trombosis del seno venoso<sup>(7)</sup>.

Teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente, es necesario realizar los siguientes estudios complementarios para arribar al diagnóstico: hemograma y

coagulograma completo que incluya dosaje de fibrinógeno, productos de degradación de fibrina (PDF) y dímero D, RM con difusión y FLAIR y angioRM. En un estudio retrospectivo realizado en el hospital St Jude<sup>(8)</sup> en el que se presentan 9 pacientes con diagnóstico de leucemia o linfoma, tratados entre los años 2010 y 2015, que presentaron en algún momento del curso de su tratamiento eventos neurológicos de estas características. Cuatro fueron diagnosticados retrospectivamente con síndrome “*stroke like*” por MTX, 2 con trombosis de seno venoso y 3 con infarto cerebral. En los casos de síndrome “*stroke like*”, el valor de fibrinógeno fue normal, a diferencia de los casos de infarto cerebral y trombosis del seno venoso, en los que se halló anormalmente bajo.

Por otro lado, si bien los PDF estaban dentro de la normalidad en los casos de síndrome “*stroke like*”, sí se hallaron anormalmente elevados en los casos de infarto cerebral, al igual que los valores de dímero D. La RNM mostró, en los 9 pacientes, lesiones bilaterales en el centro semioval con restricción de la difusión. Si bien la RNM presentaba áreas hiperinten-

sas en sustancia blanca en la secuencia de difusión, tanto en los casos de síndrome “*stroke like*” como en los de infarto cerebral, las primeras fueron lesiones circunscritas al centro semioval y se resolvieron espontáneamente.

### Conclusión

Si bien el síndrome “*stroke like*” es una patología poco frecuente, autolimitada y de resolución rápida, el diagnóstico oportuno y diferencial frente a otras etiologías es clave para la elección del tratamiento óptimo. Para ello los antecedentes, la clínica y la RNM con difusión son claves para arribar al diagnóstico correcto. La continuidad del tratamiento con MTX intratecal y endovenoso no están contraindicados, si bien se han reportado casos de reaparición de síntomas frente a la reexposición; todos fueron autolimitados y resolvieron sin secuelas. El beneficio de la continuidad del tratamiento supera los riesgos, y las secuelas no parecen existir en este tipo de presentación de neurotoxicidad.

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

### Bibliografía

1. Deepa Bhojwani, Noah D. Sabin et al. Methotrexate-Induced neurotoxicity and Leukoencephalopathy in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol.* 2014;32(9): 949-959.
2. Bond J, Hough R, Moppett J, Vora A, Mitchell C y Goulden N. ‘Stroke-like syndrome’ caused by intrathecal methotrexate in patients treated during the UKALL 2003 trial. *Leukemia.* 2013 Apr;27(4):954-6.
3. Ching-Hon Pui, Scott C Howard. Current management and challenges of malignant disease in the CNS in paediatric leukaemia. *Lancet Oncol.* 2008;9:257-68.
4. Goicoechea García C. Farmacología del metotrexato. *Reumatol Clin Supl.* 2016;11(1):3-7.
5. Shuper A, Stark B, Kornreich L, Cohen IJ, Aviner S, Steinmetz A et al. Methotrexate treatment protocols and the central nervous system: significant cure with significant neurotoxicity. *J Child Neurol.* 2000;15:573-80.
6. Rogers P, Pan WJ, Drachtman RA, Haines C. A Stroke Mimic: Methotrexate-induced Neurotoxicity in the Emergency Department. *J Emerg Med.* 2017 Apr;52(4):559-561.
7. Kjeld Schmiegelow, Andishe Attarbaschi et al. Consensus definitions of 14 severe acute toxic effects for childhood lymphoblastic leukaemia treatment: a Delphi consensus. *Lancet Oncol.* 2016; 17: e231-39.
8. Kentaro Watanabe, Yuki Arakawa et al. Characteristics of methotrexate-induced stroke-like neurotoxicity. *Int J Hematol.* 2018 Dec;108(6):630-636.



**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.

# Sistema PANDA: fórmula automatizada basada en actividad de peroxidasa

PANDA System: peroxidase and nuclear density analysis

Almirón M, Arias M.

Unidad Asistencial Dr. Cesar Milstein. Ciudad de Buenos Aires

mauricionicolasalmliron@gmail.com

Fecha recepción: 18/11/2021

Fecha aprobación: 3/12/2021



LABORATORIO

HEMATOLOGÍA

Volumen 25 n° 3: 89-91  
Septiembre - Diciembre 2021

**Palabras claves:** peroxidasa, análisis, nuclear.

**Keywords:** peroxidase, analysis, nuclear.

## Fundamento

Para realizar el recuento diferencial de leucocitos el equipo ADVIA 2120 consta de dos métodos separados: por un lado determina la actividad de la peroxidasa citoplasmática y por otro la densidad nuclear (lobularidad).

Para determinar la actividad de dicha enzima se lisan los glóbulos rojos y se utilizan reactivos específicos para distinguir entre células positivas para la peroxidasa (neutrófilos, eosinófilos y monocitos) y

células negativas que incluyen linfocitos, basófilos y "células grandes no teñidas" (LUC). Para determinar la absorbancia y el tamaño se utiliza un sistema óptico basado en tungsteno. Las células absorben luz en proporción a la cantidad de peroxidasa presente, y este parámetro se relaciona con la actividad de peroxidasa representado en el eje "x" del *scatter* de peroxidasa. Por otro lado las células dispersan la luz en proporción a su tamaño, y este parámetro está representado en el eje "y" del gráfico (Figura 1).

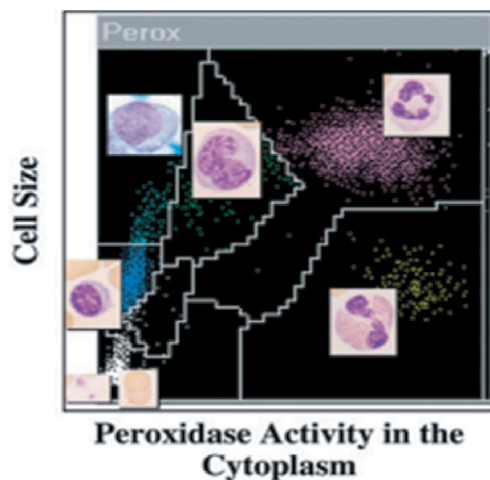


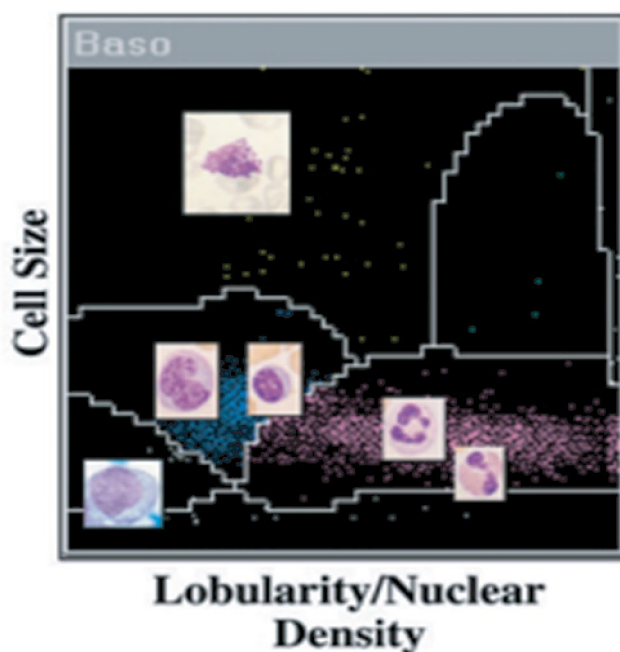
Figura 1. Tamaño celular vs actividad de la peroxidasa citoplasmática.

Por otro lado el canal de densidad nuclear, también llamado canal de basófilos, es el principal utilizado para informar el recuento de leucocitos. En este canal se lisan los glóbulos rojos y las plaquetas, además de eliminar la membrana plasmática de los leucocitos, excepto de los basófilos. Posteriormente se realiza un recuento de células y se clasifican de acuerdo a su tamaño, lobularidad y densidad nuclear. Este canal proporciona información valiosa respecto a la maduración nuclear debido a su lobularidad y densidad. (Figura 2).

### Características pre analíticas

La muestra utilizada es sangre entera anticoagulada con EDTA K3. No se requiere ayuno prolongado, aunque no se recomienda ingerir alimentos grasos en las horas previas a la extracción.

Se debe llenar el tubo hasta el enrase definido por el fabricante. Un exceso de sangre por encima de la marca presente en el tubo puede hacer que se coagule la muestra y, por ende, se generará un rechazo de la misma.



**Figura 2.** Tamaño celular vs complejidad nuclear.

### Utilidad clínica

La presencia de dos canales para determinar la fórmula diferencial provee un análisis simultáneo del contenido de mieloperoxidasa, de la densidad nuclear y del tamaño celular que se denomina método PANDA (Peroxidase And Nuclear Density Analysis), que se ha convertido en una herramienta diagnóstica junto con el inmunofenotipo y el análisis genético. Se han descrito patrones (P0 a P6) de acuerdo a un gradiente de actividad creciente de peroxidasa, donde P0 refleja una actividad nula de dicha enzima, mientras que P6 indica una actividad inusualmente aumentada de peroxidasa. De manera similar, existen 3 patrones (D0 a D2) de acuerdo a la densidad nuclear, donde D0 representa un conjunto de células mononucleares con núcleo redondo

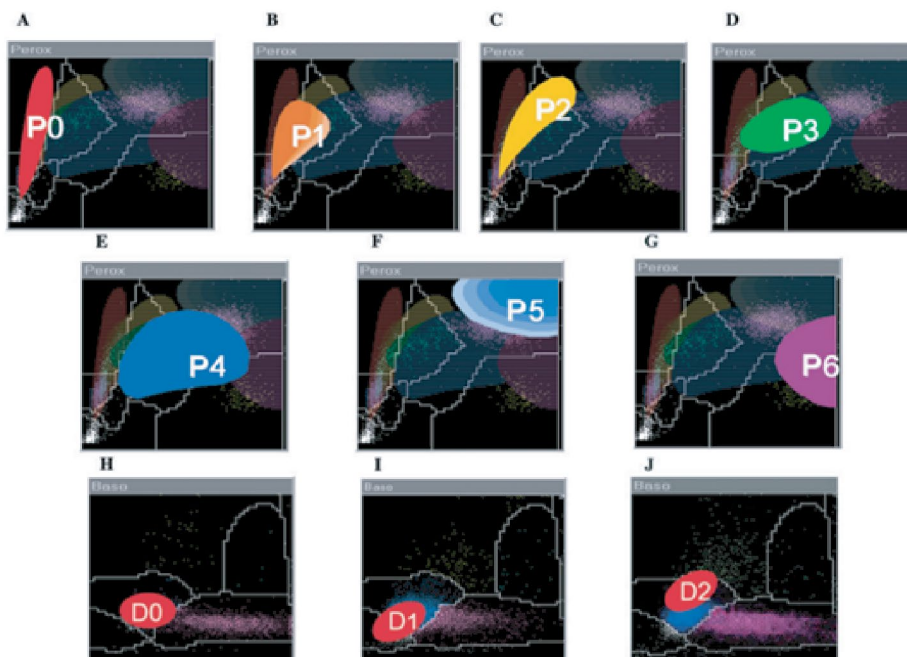
mientras en los otros dos patrones la nube celular se encuentra desplazada respecto a D0 (Figura 3).

Los patrones de actividad de peroxidasa combinados con los de densidad nuclear permiten la correlación con categorías diagnósticas (Tabla 1).

De esta manera se pueden destacar algunos patrones característicos como, por ejemplo, el P6 que está asociado a una leucemia promielocítica aguda (M3) debido a la gran actividad de MPO que presentan estas células.

Otra condición que presenta un patrón característico es la deficiencia de MPO. En este caso veremos un patrón tipo P0 en caso de que el déficit sea total o un perfil P1 o P2 en aquellos pacientes en que la deficiencia sea severa o parcial respectivamente.

Por todo lo expuesto podemos inferir que el sistema



**Figura 3.** Patrones formados de acuerdo a la actividad de peroxidasa (P0 a P6) y densidad nuclear (D0 a D2)

**Tabla 1.** Análisis de densidad nuclear y actividad de peroxidasa (PANDA)

	P0	P1	P2	P3	P4	P5	P6
D0	CLL, PLL, HCL, ALL-L1, total MPO deficiency	Severe MPO deficiency	Partial MPO deficiency	CML	CML	AIDS, MDS	
D1	ALL (L1-L3), NHL, M0, M5a, M6, M7	M1, M5a, M2, M4	M2, M4, M5a, M5b, M1	M2, M4, CML-BC	M2, M3v, M4	M3v, atypical CML	M3
D2	Infectious mononucleosis, viral diseases						

PANDA posee ventajas particulares respecto al análisis de la fórmula leucocitaria, dado que nos brinda información valiosa en este aspecto y nos permite sospechar algunas condiciones clínicas de acuerdo

al patrón obtenido en los gráficos disponibles en el equipo. Todas estas condiciones clínicas deberán ser confirmadas mediante estudios posteriores como, por ejemplo, citocimica e inmunofenotipo.

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

**Bibliografía**

- Harris N, Kunicka J, Kratz A. The ADVIA 2120 Hematology System: Flow Cytometry-Based Analysis of Blood and Body Fluids in the Routine Hematology Laboratory. *Lab Hematol.* 2005;11(1):47-61.
- Winterbourn CC, Vissers MC, Kettle AJ. Myeloperoxidase. *Curr Opin Hematol.* 2000;7:53-58.
- D’Onofrio G. PANDA: innovative classification of hematopoietic malignancies. *Bloodline Rev.* 2001;1:3-6.



**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.

# Linfohistiocitosis hemofagocítica secundaria a *Toxoplasma* post-trasplante haploidéntico de progenitores hematopoyéticos

## Hemophagocytic lymphohistiocytosis secondary to *Toxoplasma* following haploidentical stem cell transplantation



IMAGENES  
EN HEMATOLOGIA

HEMATOLOGÍA  
Volumen 25 n° 3: 92-95  
Septiembre - Diciembre 2021

Wernicke GJ, Castro MB, Castellanos LR, Sánchez AG, Sánchez AV, Ricchi B, Basquiera AL.

Hospital Privado Universitario de Córdoba – Córdoba – Argentina

germanjosewernicke@gmail.com

Fecha recepción: 29/7/2021  
Fecha aprobación: 14/12/2021

**Palabras claves:** linfohistiocitosis hemofagocítica, *Toxoplasma gondii*, trasplante de células progenitoras hematopoyéticas.

**Keywords:** hemophagocytic lymphohistiocytosis, *Toxoplasma gondii*, hematopoietic progenitor cell transplantation.

### Resumen

La linfohistiocitosis hemofagocítica (HLH) es un trastorno hiperinflamatorio potencialmente mortal originado por alteración en la regulación inmunitaria. La HLH que ocurre posterior a un trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) es infrecuente y su diagnóstico puede ser un desafío, ya que los criterios diagnósticos se superponen con las complicaciones comunes posteriores al TCPH, como la enfermedad injerto contra huésped (EICH), las infecciones, o ambas situaciones. Presentamos una paciente que desarrolló una HLH secundaria a reactivación de *Toxoplasma gondii*.

### Abstract

Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) is a life-threatening hyperinflammatory disorder of immune regulation. HLH following hematopoietic

progenitor cell transplantation (HSCT) is unusual and the diagnosis may be challenging because diagnostic criteria overlap with common complications after HSCT, such as graft-versus-host disease and infections. We present a patient who developed HLH secondary to *Toxoplasma gondii* reactivation.

### Caso clínico

Mujer de 50 años con diagnóstico de leucemia mieloide aguda no especificada (OMS, 2016) de riesgo intermedio según ELN 2017. Realizó inducción con esquema 7/3 logrando remisión completa y dos consolidaciones con dosis altas de Ara-C + antraciclinas, alcanzando enfermedad residual medible negativa pre-TCPH. En los estudios pre-TCPH la paciente fue seropositiva para *Toxoplasma* (IgG 1/64) y el donante seronegativo. Se efectuó trasplante haploidéntico con su hijo como donante, ABO

compatible, sin discordancia de citomegalovirus (CMV) (R+/D+). Se utilizó un acondicionamiento mieloablativo con fludarabina, ciclofosfamida y busulfán, seguido de profilaxis para EICH con ciclofosfamida postrasplante, tacrolimus y micofenolato. En el curso del trasplante presentó fiebre sin foco, sin aislamiento de gérmenes. Cumplió tratamiento antibiótico empírico sin otras interurrencias. El injerto de neutrófilos se alcanzó el día +16 post-TCPH, sin lograr injerto de plaquetas hasta el día +28. Fue dada de alta al día +23 con pentamidina como profilaxis de *Pneumocystis jirovecii*, sin EICH. El quimerismo al día +30 post-TCPH fue de 100% del donante.

Al día +50 post-TCPH la paciente presentó fiebre y pancitopenia asociada a reactivación de CMV, por lo que recibió tratamiento antiviral con foscarnet. A pesar del tratamiento, los registros febriles persistieron y se profundizó la pancitopenia (GB: 2.000/mm<sup>3</sup>, N: 60%, L: 10%, Hb: 8,3 g/dL, plaquetas 22.000/mm<sup>3</sup>) con requerimiento transfusional, alcanzando valores de ferritina de 5800 ng/mL, proteína C reactiva de 11,38 mg/dL, triglicéridos 226 mg/dL y fibrinógeno 304 mg/dL. La evaluación del medulograma evidenció hemofagocitosis prominente (Figura 1A) e histiocitos con presencia de inclusiones citoplasmáticas (Figura 1B). La biopsia de médula ósea fue hiper celular e informó hemofagocitosis, estructuras

cocoides citoplasmáticas PAS (Figura 2) y GIEMSA positivas. La paciente cumplió con cinco de los ocho criterios diagnósticos de HLH según HLH-2004 (fiebre, citopenias, hipertrigliceridemia, hiperferritinemia y hemofagocitosis en la médula ósea), con un índice H de 218 puntos con una probabilidad de 93-96% de síndrome hemofagocítico.

Se realizó PCR para *Toxoplasma gondii* en sangre medular y fue positiva (Figura 3).

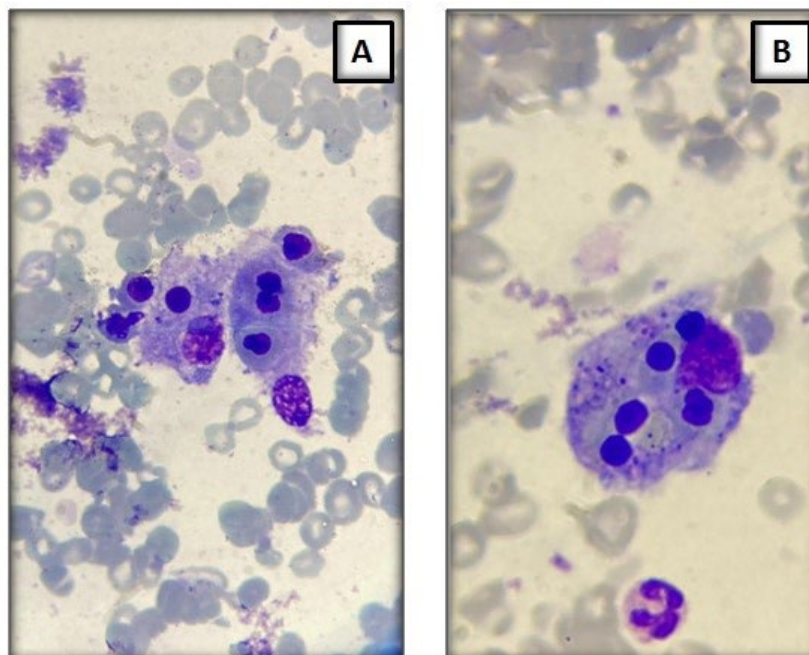
Se instauró tratamiento con trimetoprim sulfametoxazol (TMP/SMX) con buena evolución clínica y de laboratorio.

### Discusión

Los pacientes que reciben TCPH y tienen antecedente de toxoplasmosis pueden desarrollar una enfermedad sistémica secundaria por reactivación y, en raras ocasiones, conducir a una HLH con tasa de mortalidad elevada.

La reactivación de *T. gondii* es más frecuente durante los primeros meses posterior al trasplante, y el riesgo es mayor si hay una reconstitución inmune retardada o EICH que requiera aumentar la inmunosupresión. El donante seropositivo / receptor seronegativo (D+ / R-) parece tener un riesgo menor que el donante seronegativo / receptor seropositivo (D- / R+). La profilaxis con TMP/SMX es efectiva

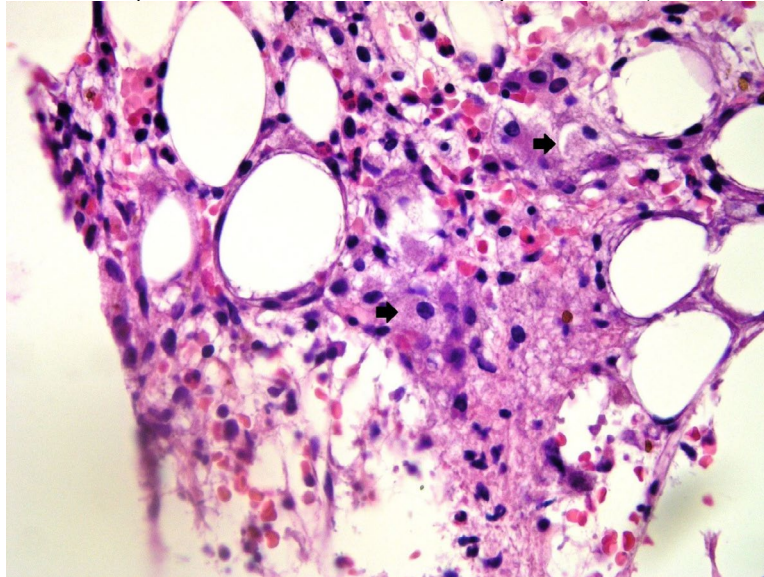
**Figura 1.** Aspirado de médula ósea. Tinción May-Grünwald Giemsa. Visualización de 100X que evidencia histiocitos con material fagocitado (A) y eritrofagocitosis (B).



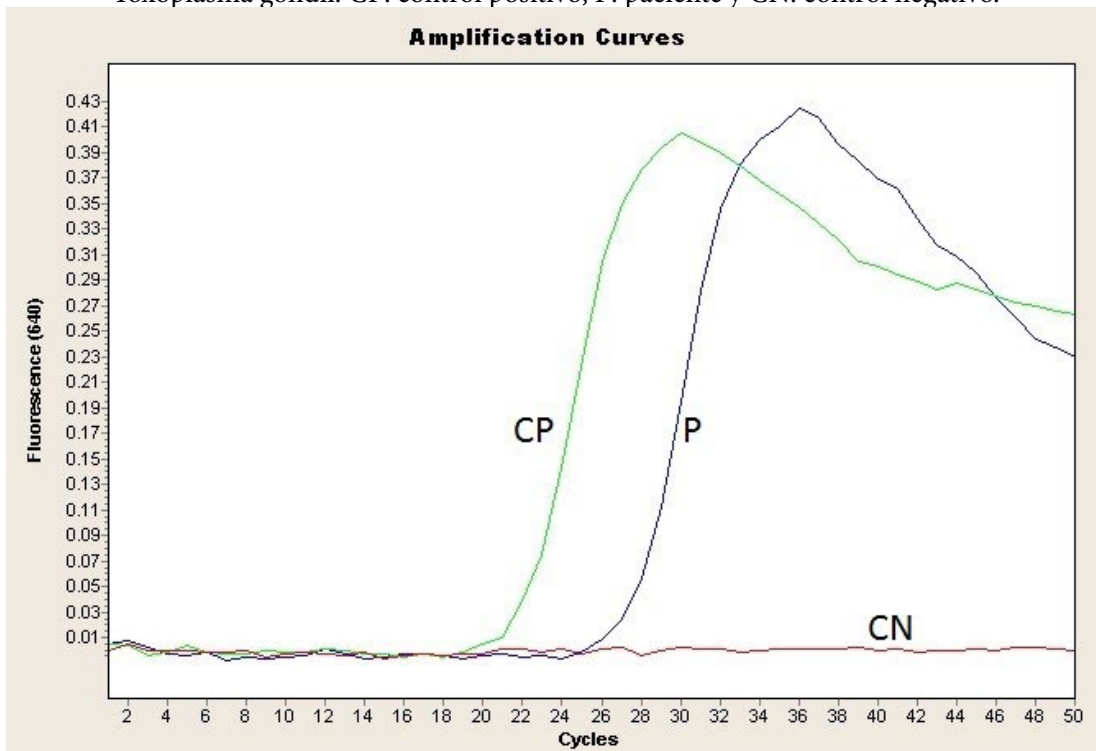
para *T. gondii* y además contra *Pneumocystis*, *Nocardia* y *Listeria*.  
 La PCR para toxoplasmosis debería ser realizada en pacientes febriles que son seropositivos, y se debe

considerar la terapia empírica cuando ocurre sepsis, signos y síntomas neurológicos o pulmonares, principalmente en países de alta prevalencia.

**Figura 2.** Biopsia de médula ósea. Tinción PAS Visualización de 40X. Células macrofágicas con detritus celular, y estructuras cocoides intracitoplasmáticas (flecha).



**Figura 3.** Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR). Se amplificó un fragmento de 134 pares de bases mediante iniciadores y sondas específicas dirigidos a una región repetitiva del genoma del *Toxoplasma gondii*. CP: control positivo, P: paciente y CN: control negativo.



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

### References

1. Komitopoulou A, Goussetis E, Oikonomopoulou C et al. Toxoplasma gondii: How fatal is it in pediatric allogeneic bone marrow transplantation setting? *Transpl Infect Dis.* 2020;22:e13226.
2. Sanchez-Petitto G, Holtzman NG, Bukhari A et al. Toxoplasma-induced hemophagocytic lymphohistiocytosis after haploidentical allogeneic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis.* 2020;22:e13242.
3. Conrad A, Le Marechal M, Dupont D et al. A matched case-control study of toxoplasmosis after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: still a devastating complication. *Clin Microbiol Infect.* 2016 Jul;22(7):636-41.



**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.



## REGLAMENTO DE LA REVISTA HEMATOLOGÍA

HEMATOLOGÍA  
Volumen 25 N°3: 83-84  
Diciembre 2021

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](http://www.revistahematologia.com.ar). Podrán acceder al instructivo y solicitar asistencia a los mails allí indicados. Ningún trabajo será recepcionado por fuera del sistema.

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

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

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

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

Actualmente las secciones de la Revista Hematología son:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ejemplo: Kaldor JM, Day EN, Clarke EA y col. Leukemia following Hodgkin's disease. N Engl. J Med 1990; 322:7-13.

Cuando se trate de libros se harán figurar el nombre del autor/es, título del capítulo, título del libro, editor/es, año de aparición, páginas separadas por guión, agregando el número de edición si no fuera la primera edición, editorial, y ciudad. Ejemplo: Hughes TP and Goidman JM. Chronic myeloid leukemia. Hematology: Basic Principles and Practice. R. Hoffman, El Benz, Sj Shatill, B Ftirie y EJCoben 1991, p 854-869. Churchill Livingstone, Edinburgh.

Las citas deben estar referenciadas en el texto entre paréntesis y en formato superíndice

- 2) La sección Yo opino está destinada a expresar la opinión de un experto sobre un tema controvertido solicitado por el comité editor. La disidencia respecto a esta opinión se podrá dar a través de la sección correo de lectores. La longitud no deberá superar las 3.000 palabras. Deberán ser escritas con el formato gráfico de los artículos originales.
- 3) Los ateneos anatómico-clínicos deberán ser escritos con el mismo formato gráfico y se procederá de la misma forma que los artículos originales.
- 4) Las Editoriales serán solicitadas por el Comité Editor. Tendrán título y texto con características de monografía, en lo posible con una extensión que no supere las 2.000 palabras, con un máximo de 5 citas bibliográficas, el nombre del autor, su dirección con código postal y dirección de mail.
- 5) Las Actualizaciones y/o revisiones deberán ser escritas con el formato gráfico de los artículos originales. La longitud no deberá superar las 5.000 palabras.
- 6) La sección Hematología Pediátrica: Estará destinada a revisiones de tópicos hematológicos y casos clínicos en niños. Deberán ser escritas con el formato gráfico 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 gráfico de los artículos originales.
- 8) La sección Comunicaciones breves deberán ser escritas con el formato gráfico 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 gráfico de los artículos originales.
- 10) La sección Historia de la Hematología deberán ser escritas con el formato gráfico 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 gráfico 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 gráfico 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 gráfico 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

#### Modelos animales:

Si se aceptaran trabajos en modelos animales, los autores deberán enviar el certificado correspondiente de aprobación del proyecto emitido por la CICUAL (Comisión Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio).

#### 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](http://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 25 N°3: 85-86  
Diciembre 2021

- 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

#### Animal models:

If articles in animal models are accepted, the authors must send the corresponding certificate of approval of the project issued by CICUAL (Institutional Commission for the Care and Use of Laboratory Animals).

Argentinean Society of Hematology, Editorial Board of *HEMATOLOGÍA*  
 Julián Álvarez 146 - 1414 - CABA - Argentina  
 E-mail: sah@sah.org.ar /// revista@sah.org.ar



# REVISTA HEMATOLOGÍA

<http://revistahematologia.com.ar/>  
ISSN 0329-0379

Entidad editora SOCIEDAD ARGENTINA DE HEMATOLOGÍA  
Julián Álvarez 146 - Ciudad Autónoma de Bs As - Argentina  
(54-11) 4855-2452 / 2485  
[www.sah.org.ar](http://www.sah.org.ar) - [revista@sah.org.ar](mailto:revista@sah.org.ar)