

# HEMATOLOGIA

## ARTÍCULO ORIGINAL

Comparación de perfiles multiméricos del factor de von Willebrand obtenidos mediante un ensayo electroforético comercial y electroforesis local con geles de agarosa 1%

Proyecto Célula T 2.0:  
análisis interino a junio 2021

Aplicación de la separación celular para la identificación de factores de riesgo genético en mieloma múltiple: un estudio de la vida real

Primera experiencia sobre efectividad y seguridad de lenalidomida-bortezomib-dexametasona (RVd) como tratamiento de inducción en pacientes con diagnóstico reciente de mieloma múltiple (MM) candidatos a trasplante hematopoyético en Argentina. Estudio colaborativo del Grupo Argentino de Mieloma Múltiple (GAMM).

Impacto del Índice Neutrófilo/Linfocito en el pronóstico de los pacientes con linfoma difuso de células grandes B tratados con R-CHOP como primera línea

## EDITORIAL

"Sé lo que quiero, y estoy dispuesto a esperarlo". Nacimiento de la Subcomisión de Economía y Salud de la Sociedad Argentina de Hematología

## ARTÍCULO DE REVISIÓN

El riesgo de tromboembolismo venoso en el paciente hospitalizado no quirúrgico: "Una nueva estrategia para una vieja enemiga"

Inmunofijación: más allá de la tipificación de gammopatías monoclonales. Valor pronóstico, categorización de respuesta al tratamiento e importancia en la detección de interferencias por el uso de anticuerpos monoclonales terapéuticos y en pacientes con enfermedad COVID-19

## ATENEO

Foco neurológico en paciente pediátrico con leucemia linfoblástica aguda

## CASO CLÍNICO

Emicizumab e inmunotolerancia en paciente con hemofilia A e inhibidores: reporte de caso en Ecuador

Neoplasia de células dendríticas plasmocitoides

## NUEVAS DROGAS

Luspatercept: agente madurador eritroide para el tratamiento de la anemia en pacientes con síndromes mielodisplásicos de bajo riesgo

## PEDIATRÍA

Metahemoglobinemia recesiva congénita.  
A propósito de un caso

## LABORATORIO

Inmunofijación en diferentes líquidos biológicos. Requisitos de las etapas preanalítica, analítica y posanalítica para su realización y correcta interpretación.

## IMÁGENES EN HEMATOLOGÍA

Linfoma no Hodgkin T/NK de nariz



# **REVLIMID®** (*lenalidomida*) **PRIMER IMiD EN MM** **HASTA LA PROGRESIÓN**



**Revlimid®**  
*lenalidomida*

## Inmunomodulación selectiva de última generación<sup>1</sup>

- REVLIMID® en combinación con dexametasona está indicado para el tratamiento de pacientes con mieloma múltiple (MM) y en combinación con bortezomib y dexametasona está indicado para el tratamiento de pacientes adultos con MM no tratado previamente.
- REVLIMID® está indicado como terapia de mantenimiento en pacientes con MM luego del trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas (auto-HSCT).
- REVLIMID® está indicado para pacientes que tienen síndromes mielodisplásicos (SMD) con delección del 5q.
- REVLIMID® está indicado para pacientes con linfoma de células de mando (LMC) recaídos/refractarios de 2 terapias previas (una con bortezomib).

REVLIMID® (lenalidomida) es una especialidad medicinal registrada por Bristol-Myers Squibb Argentina S.R.L. Certificado ANMAT N° 54.360. Prospecto de Prescripción Vigente.

1. Raza S, Safyan RA, Lentzsch S. Immunomodulatory Drugs (IMiDs) in Multiple Myeloma. Curr Cancer Drug Targets. 2017; 17(9):846-857.

# HEMATOLOGÍA

## ÓRGANO DE DIFUSIÓN DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE HEMATOLOGÍA

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

Red Iberoamericana de Innovación y Conocimiento Científico - REDIB, DOAJ

ISSN: 0329-0379 (versión impresa)

ISSN: 2250-8309 (versión en línea)



latindex



REDIB



DOAJ DIRECTORY OF OPEN ACCESS JOURNALS

### 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	Feldman, Leonardo Fund. Favalaro, CABA, Argentina	Larripa, Irene Academia Nacional de Medicina, CABA, Argentina	CABA, Argentina
Aversa, Luis Hospital de Niños R Gutiérrez, CABA, Argentina	Feliu Torres, Aurora Hospital Garrahan, CABA, Argentina	Lazarowski, Alberto Fac Farmacia y Bioquímica UBA, CABA, Argentina	Ponzinibbio, Carlos Hospital Italiano, Bs. As., Argentina
Bengiú, Raquel Academia Nacional de Medicina, CABA, Argentina	Fernández, Isolda FUNDALEU. CABA, Argentina.	Martínez Rolón, Juliana FUNDALEU, CABA, Argentina	Prates, Virginia Hosp. Italiano, La Plata, Argentina
Bertolaccini María Laura King's College London, UK	Flores, Gabriela Hospital Durand, CABA, Argentina.	Mateos, María Victoria Complejo Asistencial Universitario de Salamanca/BSAL. España	Quiroga, Luis Hospital Churruca, CABA, Argentina
Bezares, Raimundo Hospital Álvarez, CABA., Argentina	Foncuberta Cecilia Instituto Alexander Fleming, CABA, Argentina	McLintock Claire National Womens Health, City Hospital, Auckland, New Zealand	Rey, Irene Hospital José María Ramos Mejía, CABA, Argentina
Bullorsky, Eduardo Hospital Británico, CABA, Argentina	Fondevila, Carlos Sanatorio Bazterrica, CABA, Argentina	Milone, Jorge Hospital Italiano, La Plata, Argentina	Riveros, Dardo CEMIC, CABA, Argentina
Casais, Patricia Centro de Hematología Pavlovsky, CABA, Argentina	Forastiero, Ricardo Fund. Favalaro, CABA, Argentina	Milovic, Vera. Hospital Alemán, CABA, Argentina.	Sánchez Ávalos, Julio Instituto Fleming, CABA, Argentina
Castro Ríos, Miguel Centro de Hematología Clínica de San Isidro. Argentina	Guillermo, Cecilia Hospital de Clínicas Dr. M. Quintela, Montevideo, Uruguay	Moiraghi, Beatriz Hospital J.M. Ramos Mejía, CABA, Argentina	Schattner, Mirta CONICET / Academia Nacional de Medicina, CABA, Argentina
De Goycochea, Diego CHUV (Centre Hospitalier Universitaire Vaudois), Lausanne - Suiza	Heller, Paula IDIM E Lanari, CABA, Argentina	Neme, Daniela Fundación de la Hemofilia. CABA, Argentina	Shanley, Claudia Hospital Británico. CABA, Argentina
Dibar, Eduardo Hospital Italiano, CABA, Argentina	Iastrebner, Marcelo Sanatorio Sagrado Corazón, CABA, Argentina	Nucifora, Elsa Hospital Italiano, CABA, Argentina	Tartas, Norma Instituto Fleming, CABA, Argentina
Di Ghiero, Guillermo Inst. Pasteur de Montevideo, Uruguay	Jaimovich Gregorio Fund. Favalaro - S. Anchorena. CABA, Argentina	Oleastro Matías Hospital Garrahan, CABA, Argentina	Tezanos Pinto, Miguel Academia Nacional de Medicina, CABA, Argentina
Donato, Hugo Hospital de Niños, San Justo, Bs. As., Argentina	Kordich, Lucía Fac Ccias Exactas, UBA, CABA, Argentina	Pavlovsky, Astrid Centro de Hematología Pavlovsky. CABA, Argentina	Torres, Oscar Maternidad Sardá. CABA, Argentina
Dupont, Juan CEMIC - CABA, Argentina	Korin, Jorge Sanatorio Los Arcos, CABA, Argentina	Picón, Armando Hospital Posadas, Bs. As., Argentina	Wannesson, Luciano Instituto Oncológico della Svizzera Italiana Bellinzona, Suiza
Erramouspe, Beatriz Hospital César Milstein, CABA, Argentina	Kuperman, Silvana Hospital de Pediatría Garrahan Bs. As., Argentina	Pizzolato, Marco Fac Farmacia y Bioquímica UBA,	Zerga, Marta Hospital Roffo, CABA, Argentina
	Kusminsky, Gustavo Hospital Austral, Pilar, Bs. As., Argentina		

VOLUMEN 26 N° 2 • Mayo - Agosto 2021 • Publicada en Agosto de 2022 • Buenos Aires, Argentina

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

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

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

Se publica en abril, agosto y diciembre de cada año

Registro de la Propiedad Intelectual N° 155751

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

OPEN ACCESS

# En 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

## Después de una terapia previa

### 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 **Johansen Johnson**

# HEMATOLOGÍA

## ARGENTINA

VOLUMEN 26 Nº 2 • Agosto 2022

### CONTENIDO

#### ARTÍCULO ORIGINAL

**Comparación de perfiles multiméricos del factor de von Willebrand obtenidos mediante un ensayo electroforético comercial y electroforesis local con geles de agarosa 1%**

López MS, Paiva J, Woods AI, Saez MS, Barrera LH, Privitera V, Chuliber F, Villagra Iturre M, Penchasky D, Sorroche P, Martinuzzo ME, Sánchez Luceros A. .... 9

**Proyecto Célula T 2.0: análisis interino a junio 2021**

Pereyra P, Fiad L, Martín C2, Alfonso G, Presas V, Isnardi S, Ottino A, Warley F, Kohan D, Enrico A, Sardú L, Suarez G, Gabus R, Marquez M, Arriola JP, De Dios Soler M, Cugliari MS, Rojas Bilbao E, Maradei J, Leonardi I, Trucco JI, Rodríguez Zubieta M, Mahuad C, Rojas Bilbao E, Guanchiale L, Sánchez AV, Jarchum G, Mariano R, Gilli V, Vijnovich Barón A, Narbaitz M, Pavlovsky A. .... 21

**Aplicación de la separación celular para la identificación de factores de riesgo genético en mieloma múltiple: un estudio de la vida real**

Lang C, Maradei J, Beccacece M, Furque A, Encina T, Pombo P, Remaggi G, Ochoa P, López Ares L, Colucci M, De Paul N, Ríos Sant F, Vázquez M, Lemuñir P, Boughen S, Brandt M, Calmet, R, Castello C, Ferreras R C7, Giarini P, Jones L, Martin N, Moro D, Pasquali J, Ríos Part M, Di Chiara R, Taborda G, Venchi R, Sandoval M, Iommi M, Torreguitart F, Agriello E, Milone J. .... 28

**Primera experiencia sobre efectividad y seguridad de lenalidomida-bortezomib-dexametasona (RVd) como tratamiento de inducción en pacientes con diagnóstico reciente de mieloma múltiple (MM) candidatos a trasplante hematopoyético en Argentina. Estudio colaborativo del Grupo Argentino de Mieloma Múltiple (GAMM)**

Duarte P, Schutz N, Remaggi G, Ochoa P, Seehaus C, Caeiro G, Corzo A, Funes ME, Garate G, Aizpurúa F, Yantorno S, Giannini ME, Cruset S, García-Altuve J, Paoletti M, Quiroga L, Fantl D. .... 36

**Impacto del Índice Neutrófilo/Linfocito en el pronóstico de los pacientes con linfoma difuso de células grandes B tratados con R-CHOP como primera línea**

Baltazar S; Sotomayor G; Ríos M; Nava W; Ávila G; Garza D. .... 46

## EDITORIAL

### **“Sé lo que quiero, y estoy dispuesto a esperarlo”. Nacimiento de la Subcomisión de Economía y Salud de la Sociedad Argentina de Hematología**

*Albarracin F; Solimano J* ..... 53

## ARTÍCULO DE REVISIÓN

### **El riesgo de tromboembolismo venoso en el paciente hospitalizado no quirúrgico: "Una nueva estrategia para una vieja enemiga"**

*Muñoz Rossi F; Puentes Rodríguez C; Ricardo Ossio G; Pico Barrios F; Guzmán Figueredo L* ..... 55

### **Inmunofijación: más allá de la tipificación de gammopatías monoclonales.**

### **Valor pronóstico, categorización de respuesta al tratamiento e importancia en la detección de interferencias por el uso de anticuerpos monoclonales terapéuticos y en pacientes con enfermedad COVID-19**

*Alejandre, M.E.* ..... 63

## ATENEO

### **Foco neurológico en paciente pediátrico con leucemia linfoblástica aguda**

*Eleno Beierbach AP, Rodríguez M, Cuello MF, Ruiz C, Franchi ME, Moran LE, Soria ME, Ferraro CL, Novas FN, Prada S, Schwab G, Basack N, Drelichman G* ..... 74

## CASO CLÍNICO

### **Emicizumab e inmunotolerancia en paciente con hemofilia A e inhibidores: reporte de caso en Ecuador**

*Chiang H; González MC; Rodríguez G; Ullauri V; Villa E* ..... 81

### **Neoplasia de células dendríticas plasmocitoides**

*Cismondi V; Crudo C; Gómez M; Santorum C; Garavaglia G; Arias M* ..... 86

## NUEVAS DROGAS

### **Luspatercept: agente madurador eritroide para el tratamiento de la anemia en pacientes con síndromes mielodisplásicos de bajo riesgo**

*Quarchioni, MA* ..... 91

## PEDIATRÍA

### **Metahemoglobinemia recesiva congénita. A propósito de un caso**

*Eandi Eberle S, Chaves A, Pepe C, Dieuzeide MP, Fernández D, Novello F, Ávalos Gómez V* ..... 97

## LABORATORIO

### **Inmunofijación en diferentes líquidos biológicos. Requisitos de las etapas preanalítica, analítica y posanalítica para su realización y correcta interpretación.**

*Alejandre, ME; Facio, ML; Viniegra, J; García M; Barakian BF; Madalena, LB* ..... 101

## IMÁGENES EN HEMATOLOGÍA

### **Linfoma no Hodgkin T/NK de nariz**

*Pertiné B; Milone G; Ávila J; Muratore A; Henry N; Herrera M P; Rivero M F; Petersen E; Dib J* ..... 107



**PRIMER BTKi DE  
2<sup>da</sup> GENERACIÓN  
MÁS POTENTE  
Y SELECTIVO**

**CALQUENCE<sup>®</sup>**

(acalabrutinib) cápsulas de 100 mg

**Los resultados del estudio fase III, ELEVATE RR, en pacientes con LLC previamente tratados demostraron:**



**Una incidencia de FA de cualquier grado significativamente menor vs. ibrutinib (8,5% vs. 16%)**



**Una tasa de hipertensión arterial significativamente menor vs. ibrutinib (9,8% vs. 28%)**



**Una tasa de discontinuación por efectos adversos inferior a ibrutinib (14,7% vs. 21,3%)**



**Una incidencia acumulada de sangrados de cualquier grado menor a Ibrutinib**



Escanee el código QR para acceder al prospecto de Calquence<sup>®</sup> o ingrese aquí: [lead.me/bbC6LS](http://lead.me/bbC6LS)

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

Describirse: <http://uqr.to/opt-out-ar>. Aviso de Privacidad: <http://uqr.to/aviso-privacidad>. Reportes de eventos adversos: <http://uqr.to/ae-argentina>. Material Promocional para uso exclusivo de Profesionales de la Salud. Especialidad Medicinal autorizada por el ministerio de salud bajo condiciones especiales Certificado N° 59002.



**IMPULSADOS  
POR NUESTRA  
PROMESA**

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

AFG-NA-0026

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

**CSL Behring**

Bioterapias para la vida™

# Comparación de perfiles multiméricos del factor de von Willebrand obtenidos mediante un ensayo electroforético comercial y electroforesis local con geles de agarosa 1%

Comparison of von Willebrand factor multimer profiles obtained through a commercial electrophoretic test and home-made electrophoresis with 1% agarose gels

López MS<sup>1</sup>, Paiva J<sup>2</sup>, Woods AI<sup>3</sup>, Saez MS<sup>1</sup>, Barrera LH<sup>1</sup>, Privitera V<sup>4</sup>, Chuliber F<sup>4</sup>, Villagra Iturre M<sup>2,4</sup>, Penchasky D<sup>4</sup>, Sorroche P<sup>1</sup>, Martinuzzo ME<sup>1</sup>, Sánchez Luceros A<sup>2,3</sup>.

<sup>1</sup> Secciones de Hematología-Hemostasia y Proteínas del Laboratorio Central del Hospital Italiano de Buenos Aires, Argentina

<sup>2</sup> División Química, Instituto de Investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina, Hemostasia y Trombosis, Buenos Aires, Argentina

<sup>3</sup> Laboratorio de Hemostasia y Trombosis, IMEX-CONICET-Academia Nacional de Medicina, Laboratorio de Hemostasia y Trombosis, Buenos Aires, Argentina

<sup>4</sup> Servicio de Hematología del Hospital Italiano de Buenos Aires, Argentina

lopezmarinasol@gmail.com

Fecha recepción: 10/5/2022

Fecha aprobación: 9/8/2022

MENCIÓN ESPECIAL E POSTER CONGRESO CAHT 2021



ARTÍCULO ORIGINAL

HEMATOLOGÍA  
Volumen 26 n° 2: 9-19  
Mayo - Agosto 2022

**Palabras claves:** factor von Willebrand, multímeros del factor von Willebrand, enfermedad de von Willebrand.

**Keywords:** von Willebrand factor, von Willebrand factor multimers, von Willebrand disease.

## Resumen

La evaluación de multímeros del factor de von Willebrand (VWF) es parte esencial del diagnóstico de algunas variantes de la enfermedad de von Willebrand (VWD). Mediante técnicas electroforéticas adecuadas se pueden estimar los multímeros de peso molecular bajo (LMWM), intermedio (IMWM), alto (HMWM) y ultra-alto (UHMWM).

El objetivo del presente trabajo es determinar si el perfil multimérico obtenido mediante electroforesis en gel de agarosa seguido de inmunofijación en sistema semiautomático (Hydragel 5) y el obtenido mediante el método de referencia son comparables. Se

analizaron 24 muestras: 4 de pacientes con síndrome de von Willebrand adquirido (AVWS) secundarios a síndrome mieloproliferativo con trombocitosis (MPS-T), 18 de pacientes con VWD de diferente tipo y 2 de pacientes con púrpura trombocitopénica trombótica (PTT).

Se realizó la medición con dos metodologías diferentes:

- Multímeros por método semiautomático: electroforesis SDS-agarosa seguida de inmunofijación usando Hydragel 5 von Willebrand Multimers kit en el instrumento Hydrasys 2 (Sebia), analizado mediante programa Phoresis.

- Multímeros por método de referencia: electroforesis SDS-agarosa seguida de inmunofijación usando anticuerpos policlonales: anti-VWF humana desarrollado en conejo, anti IgG de conejo desarrollado en cerdo/biotinilado, avidina peroxidasa y reveladas con 4Cl-1-Naftol. Perfil multimérico: analizado mediante ImageQuant TL 8.1 (GE Healthcare).

Las muestras de pacientes con AVWS mostraron una disminución de HMWM. Aquéllas con VWD tipo 1 mostraron un perfil multimérico normal. Se detectaron UHMWM en las muestras de pacientes con PTT.

Con respecto a las muestras de pacientes con VWD tipo 2, 2A, 2B y 2M, se obtuvo buena concordancia entre ambos métodos.

El método semiautomático parece ser útil y apropiado como tamizaje de perfiles multiméricos de VWF en laboratorios clínicos de Hemostasia, analizados por profesionales con alta experiencia en el diagnóstico de VWD.

### Abstract

The evaluation of the von Willebrand factor (VWF) multimers is an essential part of the diagnosis of some variants of the von Willebrand disease (VWD). Using appropriate electrophoretic techniques, low (LMWM), intermediate (IMWM), high (HMWM) and ultra-high (UHMWM) molecular weight multimers can be estimated.

The aim of the study was to determine whether the multimeric profile obtained by agarose gel electrophoresis followed by immunofixation in a semi-automated system (Hydragel 5) and by the reference method are comparable.

24 samples were analyzed: four from patients with acquired von Willebrand syndrome (AVWS) secondary to myeloproliferative syndrome with thrombocytosis (MPS-T), 18 from patients with VWD of different types, and 2 from patients with thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP).

The measurement was performed with two different methodologies:

- Multimers by semiautomatic method: SDS-Agarose electrophoresis followed by immunofixation using Hydragel 5 von Willebrand Multimers kit on the Hydrasys 2 instrument (Sebia), analyzed by the Phoresis program.
- Multimers by reference method: SDS-agarose

electrophoresis followed by immunofixation using polyclonal antibodies: rabbit anti-human VWF, pig-grown/biotinylated rabbit IgG, avidin peroxidase and revealed with 4Cl-1-naphthol. Multimeric profile: analyzed by ImageQuant TL 8.1 (GE Healthcare).

AVWS samples showed decreased HMWM, while type 1 VWD samples showed a normal multimeric profile. UHMWM were detected in the TTP samples.

Considering the VWD type 2 samples, 2A, 2B and 2M, a good agreement was obtained between both methods.

The semi-automated method seems to be useful and appropriate for screening VWF multimeric profiles in hemostasis clinical laboratories analyzed by highly specialized staff in the diagnosis of VWD.

### Introducción

La enfermedad de von Willebrand (VWD) es el desorden hemorrágico congénito más frecuente y se produce por la deficiencia y/o alteración del factor von Willebrand (VWF). El VWF es una glicoproteína multimérica que se sintetiza en las células endoteliales y megacariocitos y se almacena en las organelas de depósito: los cuerpos de Weibel Palade en las células endoteliales y los  $\alpha$ -gránulos plaquetarios. Además, este factor circula en el plasma unido al factor VIII, protegiéndolo de la proteólisis mediada por inhibidores fisiológicos<sup>(1)</sup>. La unidad funcional está conformada por un monómero, que luego dimeriza, a través de uniones S-S en el dominio VWF-CK, en el extremo C-terminal. Luego de sucesivos pasos de O- y N-glicosilación, se produce la unión de los dímeros en multímeros, mediante uniones S-S entre el dominio VWF-D3. Los multímeros de VWF incluyen formas de peso molecular bajo (LMWM), intermedio (IMWM), alto (HMWM) y formas de peso molecular ultragrandes (UHMWM). El VWF almacenado en las organelas de depósito y posteriormente liberado por la vía secretoria es rico en UHMWM, mientras que el VWF plasmático secretado constitutivamente presenta multímeros pequeños, intermedios y grandes<sup>(2)</sup>. Los UHMWM son altamente trombogénicos y son degradados, una vez liberados, por la metaloproteasa plasmática ADAMTS13, enzima que cliva específicamente al VWF entre los residuos Tyr1605-Met1606 localizados en el dominio VWF-A2<sup>(1)</sup>.

Una de las funciones del VWF es participar de la hemostasia primaria, dada por su capacidad de unión al colágeno subendotelial (principalmente a través del dominio VWF-A3), propiciando la adhesividad plaquetaria a través de la unión a la glicoproteína 1b $\alpha$  (GPIb $\alpha$ ) que forma parte del complejo Ib-IX-V, a través del dominio VWF-A1. También participa en la hemostasia secundaria, al transportar al FVII-I:C y protegerlo de la proteólisis por sus inhibidores naturales. Además, favorece la agregación plaquetaria mediante su capacidad de unión a la integrina  $\alpha$ 2b- $\beta$ 3 a través del péptido Arg-Gly-Asp en el dominio VWF-C4. La actividad adhesiva del VWF depende del tamaño de sus multímeros<sup>(2)</sup> y la organización multimérica es fundamental para la funcionalidad del VWF<sup>(3)</sup>.

La VWD se clasifica en: variantes cuantitativas y variantes cualitativas. Las variantes cuantitativas son: VWD tipo 1 y tipo 3; el tipo 1 es la deficiencia leve, mientras que el tipo 3 es severo. Las variantes cualitativas, el tipo 2, se subclasifican a su vez en: VWD 2A, 2B, 2M y 2N.

La historia personal y familiar de sangrado, ya sea espontáneo o debido a trauma, cirugía, post parto, etc.<sup>(1)</sup> en conjunto con los resultados de laboratorio son importantes para arribar al diagnóstico en cada paciente individual y a una correcta clasificación de la enfermedad.

Por otro lado, para varios subtipos cualitativos se requiere realizar un diagnóstico diferencial con otras alteraciones que pueden cursar con la misma clínica y que, además, pueden presentar resultados similares de ciertas pruebas de laboratorio.

Las pruebas generales de laboratorio, como tiempo de protrombina, APTT, tiempo de trombina y fibrinógeno, no confirman ni excluyen VWD, ya que no tienen la suficiente sensibilidad. Las pruebas específicas, como la medición de VWF (funcional e inmunológico) y del factor VIII, son necesarias para el diagnóstico, mientras que las pruebas complementarias, como la agregación plaquetaria con ristocetina (RIPA) a bajas dosis y la determinación de multímeros del VWF, permiten clasificar a la VWD en diferentes tipos<sup>(1)</sup>. Recientemente se ha publicado una guía diagnóstica basada en evidencia, consensuada entre 4 sociedades científicas: Sociedad Americana de Hematología, Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia, Fundación Nacional de la Hemofilia de Estados Unidos y la Federación

Mundial de la Hemofilia, que recomienda los pasos a seguir para el diagnóstico de los diferentes tipos de VWD<sup>(3)</sup>.

El ensayo para evaluar los multímeros del VWF es parte importante en el diagnóstico de la VWD. A través del mismo se puede estimar todo el perfil multimérico (LMWM, IMWM, HMWM y UHMWM) cuali y cuantitativamente. No sólo se evalúa la presencia o ausencia de una fracción multimérica, sino que también se puede evaluar la intensidad de las bandas que conforman los diferentes multímeros, dato importante en el caso de proteólisis alterada del VWF.

Esta prueba se puede utilizar para distinguir el tipo 2A y 2B VWD del tipo 2M (o tipo 1) y del AVWS. Sin embargo, el análisis multimérico actualmente sólo se realiza en un número limitado de laboratorios especializados por ser técnicamente largo, laborioso y de difícil estandarización.

Sus dificultades metodológicas pueden llevar a resultados erróneos en la interpretación de las variantes de la enfermedad<sup>(4,5)</sup> y eso lo transforma en una metodología utilizada en segunda línea en el diagnóstico de VWD.

En los últimos años se diseñó un kit denominado Hydragel 5 von Willebrand Multimers (Sebia) destinado a la detección y análisis de la distribución de los multímeros del VWF del plasma humano mediante electroforesis e inmunofijación en gel de agarosa en el sistema semiautomático Hydrasys 2.

El análisis se realiza en 2 etapas:

- electroforesis en gel de agarosa para separar las proteínas del plasma,
- inmunofijación con un antisuero anti-VWF y un anticuerpo marcado con peroxidasa que, al ser presentados ante el sustrato en presencia de peróxido de hidrógeno, pondrá en evidencia el perfil multimérico correspondiente.

El kit provee los geles ya preparados y el sistema semiautomático Hydrasys 2 realiza todas las etapas necesarias para obtener geles listos para su interpretación<sup>(6)</sup>.

Este kit se presenta como una técnica más simplificada para evaluar el perfil multimérico del VWF con respecto a la técnica tradicional y de referencia que es la electroforesis en SDS-PAGE<sup>(7)</sup>.

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es determinar si los perfiles multiméricos obtenidos mediante electroforesis en gel de agarosa seguido de

inmunofijación en sistema semiautomático (Hydragel 5) son comparables a los obtenidos mediante el método tradicional realizado en un centro de referencia para la VWD.

### Materiales y métodos

Se analizaron un total de 24 muestras. 4 con diagnóstico de síndrome de von Willebrand adquirido (AVWS) secundarios a síndrome mieloproliferativo con trombocitosis (MPS-T), mientras que 18 muestras presentaban algún tipo de VWD: 6 tipo 1, 9 tipo 2 (confirmados mediante biología molecular), 1 probable tipo 2N, 2 tipo 2 por discordancia entre actividad y niveles antigénicos de VWF no clasificado, y 2 púrpura trombocitopénica trombótica (PTT).

Las muestras fueron analizadas por dos metodologías diferentes para determinar el perfil multimérico:

- multímeros por método semiautomático: electroforesis SDS-Agarosa seguida de inmunofijación usando Hydragel 5 *von Willebrand Multimers kit* en el instrumento Hydrasys 2 (Sebia), analizado mediante el programa Phoresis.
- multímeros por método de referencia: electroforesis SDS-agarosa seguida de inmunofijación usando anticuerpos policlonales: anti-VWF humana desarrollado en conejo, anti IgG de conejo desarrollado en cerdo/biotinilado, avidina peroxidasa y reveladas con 4Cl-1-naftol. Perfil multimérico: analizado mediante ImageQuant TL 8.1 (GE Healthcare)<sup>(8)</sup>.

Estudios genotípicos: el DNA genómico fue extraído de leucocitos de sangre periférica. El exón 28 del gen de VWF, que abarca los dominios VWF-A1 y A2, fue amplificado por PCR en Perkin-Elmer Thermocycler 2400. Existe un pseudogen localizado en el cromosoma 22 que tiene alta homología con el VWF entre los exones 23 al 34; por lo tanto, los cebadores se diseñaron evitando la amplificación del mismo. Dado el gran tamaño del exón 28, se estudió por fragmentos, mediante técnica de PCR anidada. Se realizó la secuenciación directa del DNA amplificado por la técnica automatizada de Sanger en el secuenciador automático ABI Prism 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA)<sup>(9,10)</sup>. Para confirmar la presencia de variantes genotípicas causales de la enfermedad (VGCE) se secuenció la cadena complementaria.

La determinación del nivel antigénico y de actividad

del VWF se realizó mediante técnicas inmunoturbidimétricas automatizadas para coagulómetros foto-ópticos.

Debido a que se trataba de muestras de descarte, ya informadas, que fueron almacenadas con fines educativos y académicos, y por el tipo de diseño del estudio establecido en el protocolo que fue aprobado por el comité de ética (CEPI), no se solicitó firma de consentimientos a los pacientes cuyas muestras fueron utilizadas.

La técnica comercial no presenta controles de calidad en el kit. Sin embargo, la muestra de *pool* normal que se corre en cada gel, podría funcionar como un control normal además de ser usado como perfil comparativo para el resto de las muestras largadas en ese mismo gel.

### Resultados

Los perfiles multiméricos obtenidos con ambas metodologías junto con las VGCE detectadas para cada muestra se detallan en las tablas 1 y 2, así como los valores de VWF antigénico (VWF:Ag), su actividad (VWF:RCo) y el cociente VWF:RCo/VWF:Ag.

Cada gel fue procesado en una jornada laboral, lo que se traduce en menores tiempos de procesamiento, a diferencia de la técnica local, que requiere habitualmente dos jornadas laborales. En los escaneos de densitometría realizada del gel a través del programa Phoresis se consideró de izquierda a derecha LMWM picos 1 a 3, IMWM picos 4 a 7, HMWM picos 7 en adelante, según las recomendaciones del fabricante.

Al evaluar los diferentes geles obtenidos en las jornadas laborales notamos que aquellas muestras compatibles con AVWS en pacientes con síndromes mieloproliferativos crónicos con trombocitosis presentaron cocientes VWF:RCo/VWF:Ag entre 0,3-0,48 y mostraron una disminución de los HMWM con aumento de IMWM y LMWM (Figura 1).

El perfil multimérico obtenido de las muestras con VWD tipo 1 fue normal, es decir, se visualizaron todos los picos correspondientes a los diferentes multímeros. La diferencia entre este perfil multimérico con el del *pool* normal es la altura alcanzada por dichos picos, ya que la misma va a depender del nivel de VWF (Figura 2).

En el caso de las muestras con PTT, se detectaron UHMWM. (Figura 3).

En las muestras con VWD tipo 2 se obtuvo buena

**Tabla 1.** Resultados de muestras con VWD tipo 1, AVWS, PTT y un probable VWD tipo 2N

TIPO DE MUESTRA	Pacientes	VWF:Ag (%)	VWF:RCo (%)	RAZÓN VWF:RCo/VWF:Ag	PERFIL MULTIMÉRICO	
					MÉTODO DE REFERENCIA	HYDRAGEL 5
AVWS MPS-T	n=4	94-114	32-55	0.3-0.48	-	HMWM ligeramente disminuidos. LMWM y IMWM ligeramente aumentados.
VWD tipo 1	n=6	33-58	32-45	0.6-0.85	Normal	Normal
Probable VWD tipo 2N	n=1	95 (FVIII: 33%)	77	0.77	-	Normal
PTT	BT	56	79	1.4	52% de UHMWM	UHMWM presentes
PTT	FM	156	157	1	31% de UHMWM	UHMWM presentes

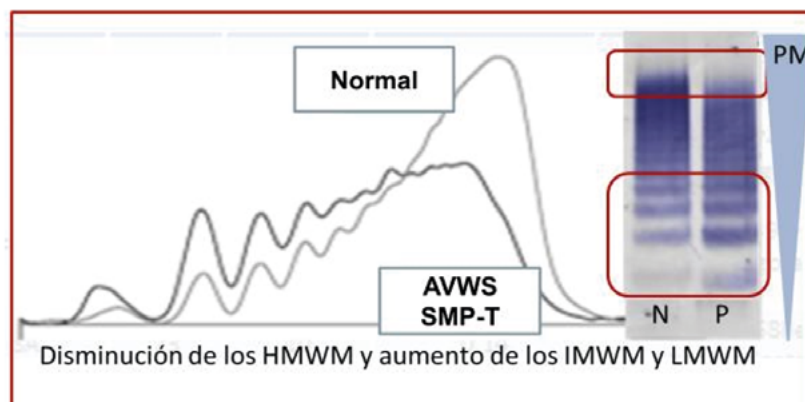
VWF:Ag: VWF antigénico; VWF:RCo: actividad de cofactor de ristocetina; VWD: enfermedad de von Willebrand; PTT: púrpura trombocitopénica trombótica; HMWM: multímeros de alto peso molecular; IMWM: multímeros de peso molecular intermedio; LMWM: multímeros de bajo peso molecular; UHMWM: multímeros extragrandes.

**Tabla 2.** Resultados de 9 muestras con VWD tipo 2 clasificadas previamente

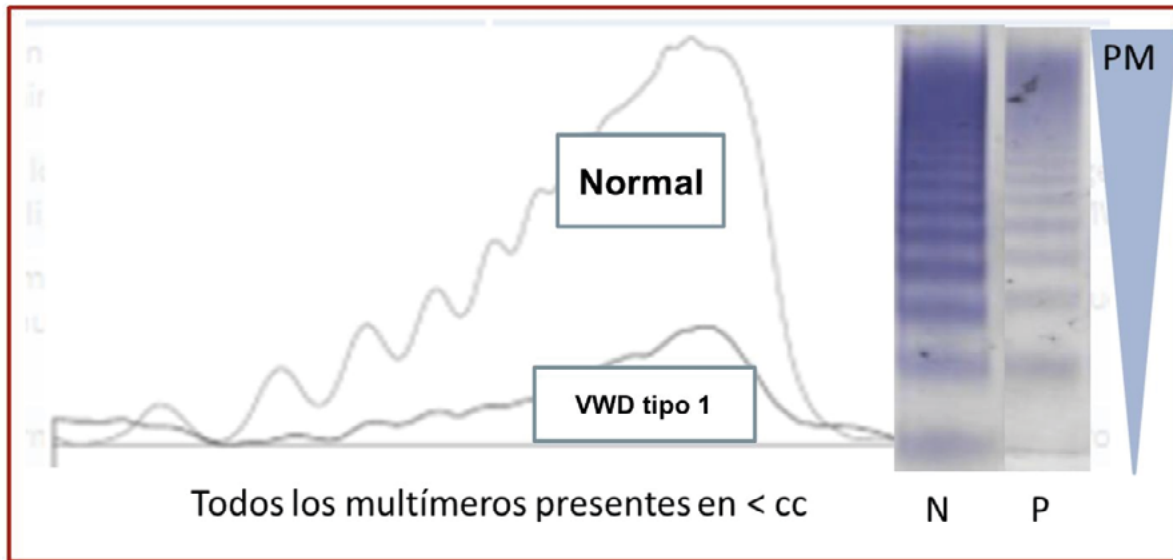
TIPO DE MUESTRA	PACIENTE	VWF:Ag (%)	VWF:RCo (%)	RAZÓN VWF:RCo/VWF:Ag	MUTACIÓN (VGCE)	PERFIL MULTIMÉRICO	
						MÉTODO DE REFERENCIA	HYDRAGEL 5
VWD tipo 2A	SC	70	<5	0.06	p.Arg1597Trp heterocigota	Ausencia de HMWM / IMWM muy disminuidos / LMWM aumentados	Ausencia de HMWM / IMWM muy disminuidos / LMWM aumentados
	EC	44	<10	0.20	p.Gly1631Asp heterocigota	Ausencia de HMWM / IMWM muy disminuidos / Aumento de LMWM	Casi ausencia de HMWM / IMWM muy disminuidos / Aumento de LMWM
VWD tipo 2M	ZC	17	<10	0.53	p.Arg1374Cys heterocigota	Todos los multímeros presentes pero ligeramente disminuidos	Moderada disminución de HMWM / Ligera disminución de IMWM / Aumento de LMWM
	PMC	21	<10	0.43	p.Glu1549Lys homocigota	Disminución de HMWM / Ligera disminución de IMWM / Aumento de LMWM	HMWM muy disminuidos / Ligera disminución de IMWM / Aumento de LMWM
	SA	73	10	0.14	p.Thr1468Ile heterocigota	Normal pero ligero aumento de LMWM	Ligera disminución de HMWM / Ligero aumento de LMWM
	AB	21	<5	0.19	p.Arg1374Cys heterocigota	Todos los multímeros presentes con baja definición entre mers	Todos los multímeros presentes pero con baja definición
VWD tipo 2B	MC	71	26	0.37	p.Arg1306Trp heterocigota	Ausencia de HMWM	Disminución de HMWM / Aumento de LMWM y IMWM
	MK	41	57	1.39	p.Pro1266Leu heterocigota	Normal	Normal
	GA	75	38	0.51	p.Val1316Met homocigota	Ausencia de HMWM	HMWM muy disminuidos / Ligero aumento de LMWM

VWF:Ag: VWF antigénico; VWF:RCo: actividad de cofactor de ristocetina; VWD: enfermedad de von Willebrand; HMWM: multímeros de alto peso molecular; IMWM: multímeros de peso molecular intermedio; LMWM: multímeros de bajo peso molecular; UHMWM: multímeros extragrandes; VGCE: variante genotípica causal de enfermedad.

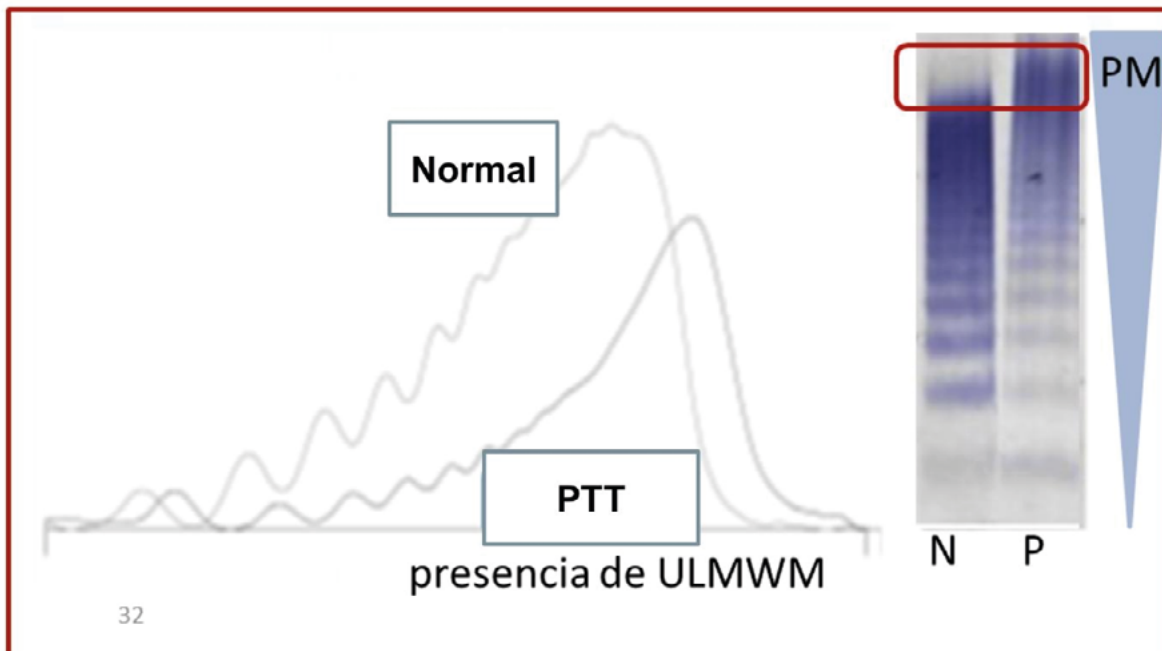
**Figura 1.** Perfil multimérico obtenido mediante la técnica Hydrigel 5 von Willebrand multimers, para una muestra con AVWS. El gráfico designado con la letra N corresponde al pool normal que se corre junto con las muestras elegidas a analizar para esa corrida. El mismo sirve como patrón comparativo para el resto de las muestras. P= muestra de paciente; N= pool normal.



**Figura 2.** Perfil multimérico obtenido mediante la técnica Hydragel 5 von Willebrand multimers, para una muestra con VWD tipo 1. P= muestra de paciente; N= pool normal.



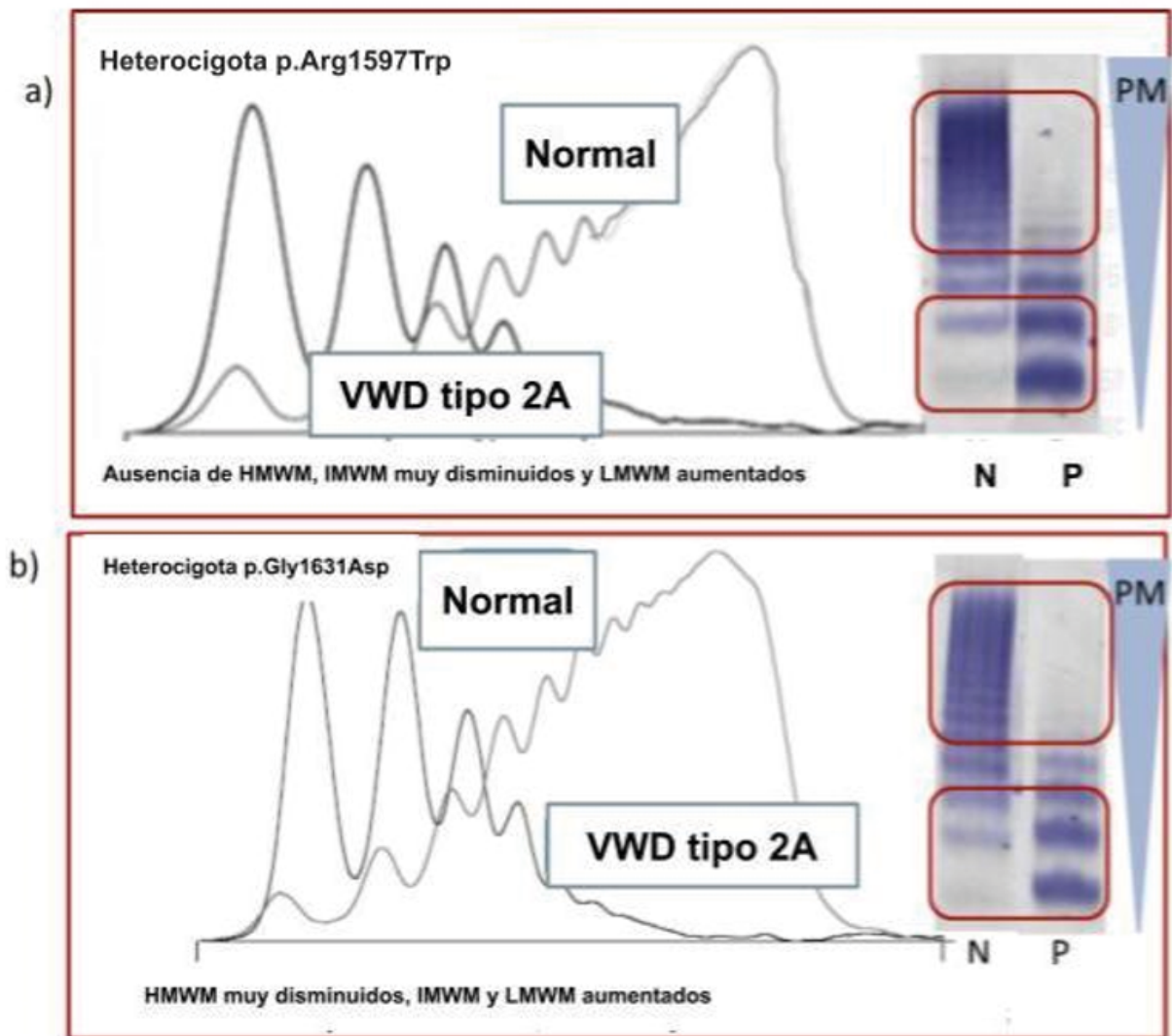
**Figura 3.** Perfil multimérico obtenido mediante la técnica Hydragel 5 von Willebrand multimers, para una muestra con PTT. P=Paciente; N= pool normal



concordancia entre ambos métodos:

- VWD 2A: los resultados de los cocientes VWF:RCo/VWF:Ag eran muy bajos y se evidenció ausencia de HMWM, IMWM muy disminuidos y aumento de LMWM en ambos casos por ambos métodos (Tabla 2). En la figura 4 se presentan los perfiles multiméricos obtenidos por el método semiautomático de los dos pacientes con VWD 2A
- VWD 2B: dos de las muestras de pacientes con las variantes genotípicas p.Val1316Met (homocigota) y p.Arg1306Trp (heterocigota) presentaron razones VWF:RCo/VWF:Ag disminuidas, observándose perfiles multiméricos con disminución de HMWM y aumento de IMWM y LMWM (Figura 5a), siendo los perfiles coincidentes entre las

**Figura 4.** Perfil multimérico obtenido mediante la técnica Hydragel 5 von Willebrand multimers, para 2 muestras con VWD 2A. P=paciente; N= pool normal



técnicas de referencia y semiautomática. No obstante, en una muestra de un paciente heterocigota para la mutación p.Pro1266Leu se obtuvo un cociente VWF:RCo/VWF:Ag normal y perfiles multiméricos conservados a través de las dos técnicas evaluadas. (Figura 5 b).

- VWD 2M: se observó la presencia de todos los multímeros, pero con baja definición del perfil debido a un nivel muy bajo antigénico y de actividad del VWF (se presenta como ejemplo una muestra heterocigota para la mutación p.Arg1374Cys) (Figura 6a). En otras dos, sin embargo, se evidenció una disminución ligera o marcada de HMW y de IMW, y aumento de LMW (se presenta como ejemplo la muestra de un paciente homoci-

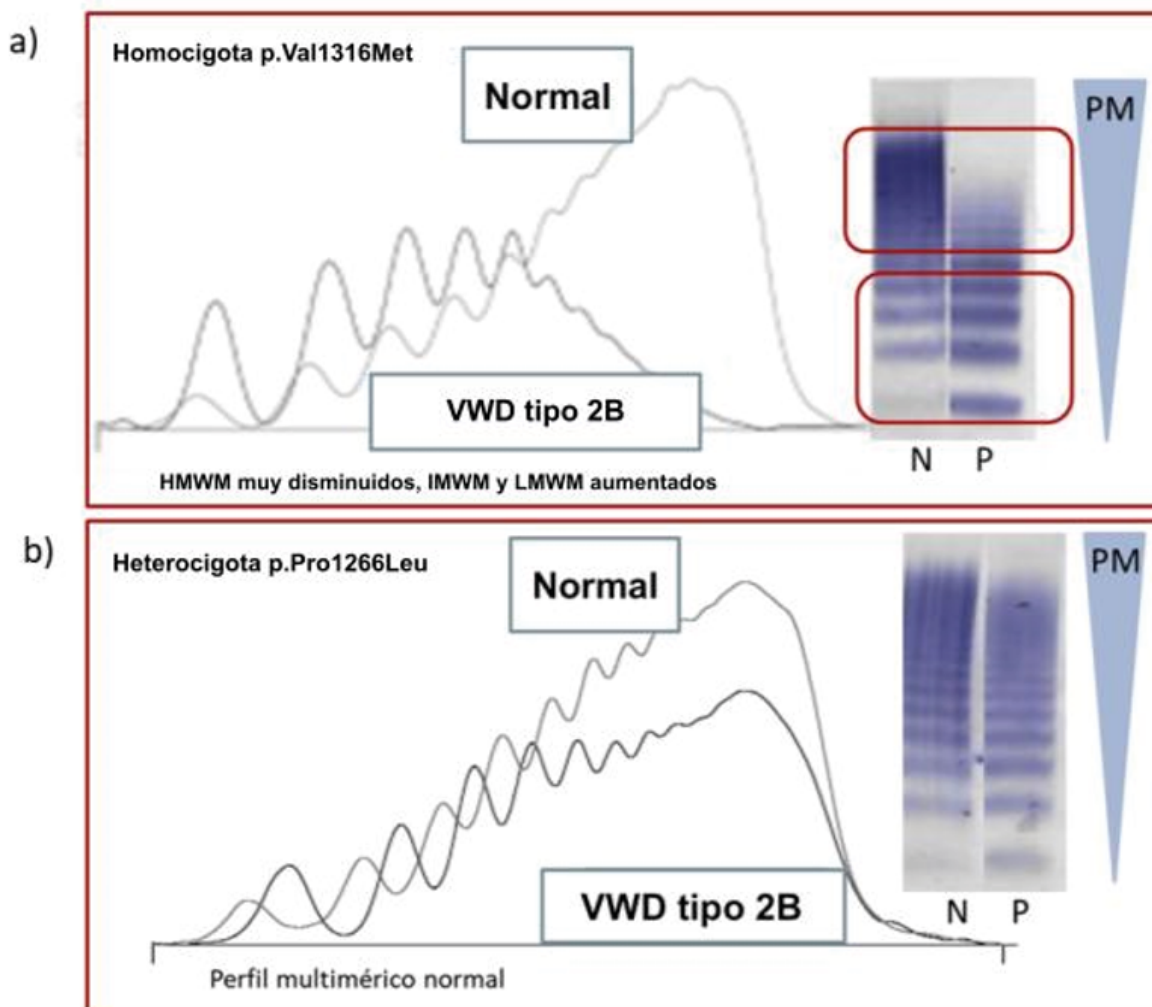
gota para la mutación p.Glu1549Lys) (Figura 6b).

- VWD probable 2N: se obtuvo un perfil multimérico normal.
- VWD tipo 2 sin clasificar: se observó presencia de todos los multímeros en una de las muestras, y ligera disminución de los HMW en la otra.

### Discusión

El algoritmo diagnóstico de las últimas guías internacionales<sup>(3)</sup> ubica al análisis de los multímeros en el puesto número 7, sugiriendo su utilidad en aquellos pacientes con VWF menor a 30% o entre 30 y 50% con historia de sangrado en los que la prueba funcional de VWF asociada a una actividad de unión a plaquetas arroje un resultado significativamente

**Figura 5.** Perfiles multiméricos obtenidos mediante la técnica Hydragel 5 von Willebrand multimers, para 2 muestras con VWD 2B con patrones multiméricos diferentes. P=paciente; N= pool normal



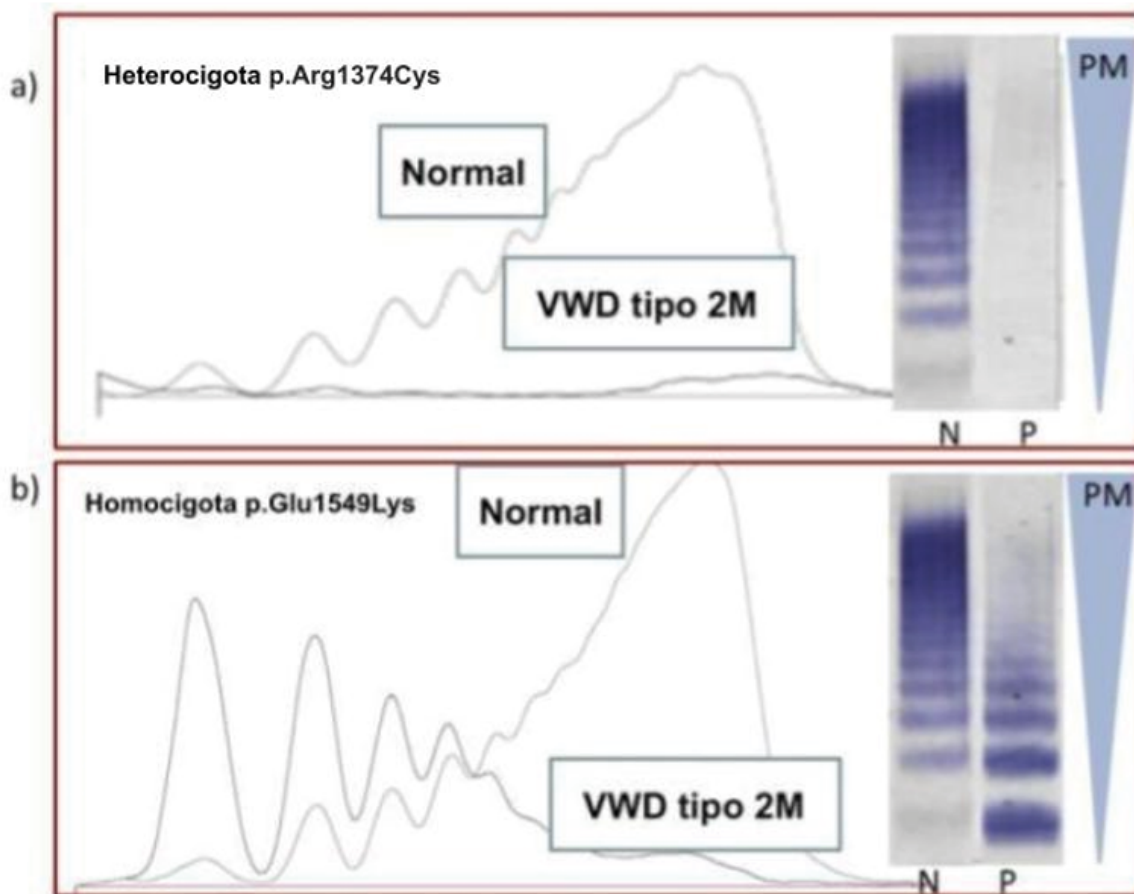
menor al nivel antigénico (relación actividad/antígeno < 0.7), es decir para la identificación del tipo de VWD 2. Si bien la determinación de multímeros de VWF es una de las técnicas que se pueden utilizar a la hora de determinar subtipos de VWD, la metodología habitual es laboriosa, y requiere de personal especializado para su correcta interpretación. Debido a esto, la aparición de un kit comercial semi automatizado plantea una alternativa para que más laboratorios de Hemostasia puedan llevar a cabo el ensayo, como fue demostrado en un estudio preliminar publicado<sup>(11)</sup>.

Con respecto a las muestras analizadas pudimos observar que aquellas que correspondían a pacientes con SMP-T y AVWS presentaron disminución de HMWM, lo que concuerda con lo publicado en AVWS asociado a síndromes mieloproliferativos

crónicos (trombocitemia esencial y policitemia vera) en los que se observan cocientes VWF:RCo/VWF:Ag < 0,7, presentando un fenotipo de VWD 2 con disminución de HMWM. El mecanismo de esta alteración ha sido postulada como adsorción del VWF a GPIb aberrante expresada en las plaquetas en SMP JaK-2 positivo y mecanismos de proteólisis, correlacionando la disminución de los HMWM junto con la disminución de la actividad del VWF dependiente de su unión a plaquetas de manera negativa y moderada con el recuento plaquetario<sup>(12)</sup>. Aquellas muestras que pudieron ser evaluadas con ambas técnicas, como fueron las correspondientes a VWD tipo 1, 2A, 2B, 2M y PTT, presentaron total concordancia del perfil multimérico con ambas metodologías. En las muestras VWD 2A los perfiles multiméricos de ausencia de HMWM

**Figuran 6.** Perfil multimérico obtenido mediante la técnica Hydrigel 5 *von Willebrand multimers*, para muestras con VWD tipo 2M.

- a) se observa un perfil normal pero de baja intensidad y definición de los multímeros.  
b) patrón que presenta disminución de HMWM y de IMWM, y aumento de LMWM.



fueron coincidentes con lo esperable en estas variantes. En las muestras de VWD 2M también hubo concordancia, aún en una muestra con un perfil multimérico inusual, la muestra homocigota p.Glu1549Lys, VGCE ya descrita por autores del presente trabajo en los que se postula un mecanismo no conocido, probablemente con disminución de sobrevivencia del VWF<sup>(9)</sup>. Sólo en una muestra de un paciente heterocigota para una mutación p.Arg1374Cys se observó una estimación semicuantitativa de los HMWM ligeramente diferente.

En los pacientes con VWF 2B el método semiautomático demostró buena concordancia con el de referencia, aún en la muestra de un paciente con la mutación p.Pro1266Leu en heterocigosis en el que el patrón multimérico está conservado. Este patrón hallado en la posición Pro1266 ha sido descrito en la literatura como variante 2B con menor tasa de

formas circulantes que pegan GPIb, menor tasa de trombocitopenias y menor sangrado<sup>(13)</sup>.

Pikta y col. analizaron muestras de pacientes con distintos tipos de VWD, alcanzando perfiles similares a los observados en nuestro estudio<sup>(11)</sup>.

Se ha publicado un análisis exhaustivo más reciente de este método semiautomatizado en un gran número de muestras (>400) de pacientes ya diagnosticados previamente con distintos tipos de VWD de acuerdo a pruebas estándares: VWF:Ag, VWF:RCO, capacidad del VWF de unir colágeno (VWF:CB), cocientes de actividad/antígeno y agregación inducida por ristocetina a baja concentración para detectar hiperagregabilidad plaquetaria a dicha concentración del agonista<sup>(14)</sup>. Además, se han estudiado muestras tomadas durante las pruebas de desmopresina en pacientes con VWD, muestras de pacientes con AVWS, con PTT y controles de calidad externo

llevado a cabo en un período de 3 años. En el mismo se demostró que los patrones obtenidos mostraron alta coincidencia con los esperables para el subtipo provisional asignado<sup>(14)</sup>.

En un estudio realizado en 2 laboratorios europeos que analizaron individuos normales, VWD tipo 1, 2A, 2B, 2M, 2N, PTT y AVWS, así como muestras post desmopresina, obtuvieron una concordancia del 91% entre los realizados por el método desarrollado local (“*in house*”) y el método semiautomático Hydragel 11 (Hydrasys), con algunas discordancias en pacientes con VWD 2 con más de una mutación y en un 20% de los pacientes con AVWS<sup>(15)</sup>. Destacan la utilidad de la densitometría para poder mejorar la apreciación de los geles con respecto de la inspección visual. En ese estudio 2 muestras con VWD 2M en pacientes relacionados con la mutación p.Arg1374Cys demostraron disminución de los HMWM con la técnica semiautomática, pero no con la técnica tradicional local, resultado que está en concordancia con los resultados en la muestra discordante descritos en el presente estudio.

Los estudios mencionados han planteado ventajas del método, como son la estandarización de la técnica, el menor tiempo y la menor complejidad de procesamiento, así como la baja variabilidad interensayo observada y la intra e interensayo relatada<sup>(15)</sup>. Como desventajas se postula el hecho de que no se discriminan los tripletes debido a que usan una sola

concentración de agarosa 2%.

Si bien se considera a la técnica de VWF:CB como un subrogante de la presencia de HMWM, se ha demostrado que los resultados del ensayo no sólo dependen del tipo de colágeno utilizado sino, además, del dominio en el que se localiza la VGCE, y se postula que el VWF:CB no reemplaza al análisis de multímeros y que ambos ensayos deben realizarse para lograr una clasificación diagnóstica correcta de VWD<sup>(16)</sup>.

La debilidad de nuestro estudio está dada por aquellas muestras que sólo fueron evaluadas por el método semiautomatizado, como es el caso de las que presentaron diagnóstico de AVWS, así como dos muestras con VWD tipo 2 sin clasificar y una probable VWD tipo 2N, además del reducido número de muestras analizadas. Por otro lado, la fortaleza del trabajo está dada por la evaluación de muestras con VWD tipo 1 y tipo 2, que fueron estudiadas en un centro de referencia con amplia experiencia en el diagnóstico y tratamiento de la VWD, no sólo con un método de detección de multímeros ampliamente validado, sino también con VGCE detectadas.

Concluimos que el método semicuantitativo-semiautomático evaluado, Hidragel 5, es útil y postulamos que el método semiautomático parece apropiado como tamizaje de perfiles multiméricos de VWF en laboratorios clínicos de Hemostasia.

**Conflictos de interés:** Martinuzzo ME declara haber recibido honorarios por parte de Takeda por concepto de conferencia de Jornadas de Bioquímicos Centro Asistencial Dr César Milstein 2021. Sánchez Luceros A declara ser titular de un Grant en Takeda. El resto de los autores declara no poseer conflictos de interés.

### Bibliografía

1. Woods AI, Blanco AN, Kempfer AC y col. Factor von Willebrand y Enfermedad de von Willebrand: nuevos enfoques diagnósticos. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 2016;50:273-289.
2. Stocksclaeder M, Schneppenheim R, Budde U. Update on von Willebrand factor multimers: focus on high molecular-weight multimers and their role in hemostasis. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2014, 25:206-216.
3. James PD, Connell NT, Ameer B y col. ASH ISTH NHF WFH 2021 guidelines on the diagnosis of von Willebrand disease. *Blood Adv.* 2021; 12:280-300.
4. Ledford-Kraemer MR. Analysis of von Willebrand factor structure by multimer analysis. *Am J Hematol.* 2010;85(7):510-514.
5. Favaloro EJ, Pasalic L, Curnow J. Laboratory tests used to help diagnose von Willebrand disease: an update. *Pathology.* 2016;48:303-318.
6. Oliver S, Edwin Lau KK, Chapman K, Favaloro EJ. Laboratory Testing for Von Willebrand Factor Multimers. *Methods Mol Biol.* 2017;1646:495-511.
7. Favaloro EJ, Oliver S. Evaluation of a new commercial von Willebrand factor multimer assay. *Haemophilia.* 2017;23:e373-e7.

8. Farías C, Kempfer AC, Blanco A, Woods A, Lazzari MA. Visualization of the multimeric structure of von Willebrand factor by immunoenzymatic stain using avidin-peroxidase complex instead of avidin-biotin peroxidase complex. *Thromb Res.* 1989;53(5):513-518.
9. Woods AI, Paiva J, Primrose DM, Blanco AN, Sánchez-Luceros A. Type 2A and 2M von Willebrand Disease: Differences in Phenotypic Parameters According to the Affected Domain by Disease-Causing Variants and Assessment of Pathophysiological Mechanisms. *Semin Thromb Hemost.* 2021;47:862-874.
10. Woods AI, Kempfer AC, Paiva J y col. Phenotypic Parameters in Genotypically Selected Type 2B von Willebrand Disease Patients: A Large, Single-Center Experience Including a New Novel Mutation. *Semin Thromb Hemost.* 2017;43: 92-100.
11. Pikta M, Zemtsovskaja G, Bautista H y col. Preclinical evaluation of a semi-automated and rapid commercial electrophoresis assay for von Willebrand factor multimers. *J Clin Lab Anal.* 2018;32:e22416.
12. Franchini M, Mannucci PM. Acquired von Willebrand Syndrome: focused for hematologists. *Haematologica.* 2020;105:2032-2037.
13. Federici AB, Mannucci PM, Castaman G y col. Clinical and molecular predictors of thrombocytopenia and risk of bleeding in patients with von Willebrand disease type 2B: a cohort study of 67 patients. *Blood.* 2009;113:526-534.
14. Oliver S, Vanniasinkam T, Mohammed S, Vong R, Favaloro EJ. Semi-automated von Willebrand factor multimer assay for von Willebrand disease: Further validation, benefits and limitations. *Int J Lab Hematol.* 2019;41:762-771.
15. Bowyer AE, Goodfellow KJ, Seidel H y col. Evaluation of a semi-automated von Willebrand factor multimer assay, the Hydrigel 5 von Willebrand multimer, by two European Centers. *Res Pract Thromb Haemost.* 2018;2:790-799.
16. Woods AI, Paiva J, Primrose DM, Blanco AN, Sánchez-Luceros A. Von Willebrand disease type 2M: Correlation between genotype and phenotype: Comment from Woods et al. *J Thromb Haemost.* 2022;20:1022-1023.



**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.

# Junto a sus pacientes con Mieloma Múltiple

 **Carfizol**<sup>®</sup>  
Carfilzomib 60 mg

**POMALID**<sup>®</sup>  
Pomalidomida / Cápsulas 1, 2, 3 y 4 mg

**REVIXIL**<sup>®</sup>  
plerixafor



CARFIZOL<sup>®</sup>



POMALID<sup>®</sup>



REVIXIL<sup>®</sup>

CARFIZOL<sup>®</sup>, POMALID<sup>®</sup> y REVIXIL<sup>®</sup> se encuentran adheridos a un Plan de Gestión de Riesgo (PGR) aprobado por la ANMAT. Ante cualquier consulta contactar al Departamento de Farmacovigilancia Gador a [farmacovigilancia@gador.com](mailto:farmacovigilancia@gador.com) o al 0-800-220-2273 (CARE). Para mayor información sobre nuestros productos visite: [www.gador.com](http://www.gador.com). Material exclusivo para Profesionales de la Salud.

 **Gador**

# Proyecto Célula T 2.0: análisis interino a junio 2021

T-cell project 2.0: interim analysis to June 2021

Pereyra P<sup>1</sup>, Fiad L<sup>2</sup>, Martín C<sup>2</sup>, Alfonso G<sup>1</sup>, Presas V<sup>1</sup>, Isnardi S<sup>3</sup>, Ottino A<sup>3</sup>, Warley F<sup>4</sup>, Kohan D<sup>4</sup>, Enrico A<sup>5</sup>, Sardú L<sup>6</sup>, Suarez G<sup>6</sup>, Gabus R<sup>7</sup>, Marquez M<sup>8</sup>, Arriola JP<sup>8</sup>, De Dios Soler M<sup>8</sup>, Cugliari MS<sup>9</sup>, Rojas Bilbao E<sup>9</sup>, Maradei J<sup>10</sup>, Leonardi I<sup>10</sup>, Trucco JI<sup>11</sup>, Rodríguez Zubieta M<sup>11</sup>, Mahuad C<sup>12</sup>, Rojas Bilbao E<sup>12</sup>, Guanchiale L<sup>13</sup>, Sánchez AV<sup>13</sup>, Jarchum G<sup>14</sup>, Mariano R<sup>15</sup>, Gilli V<sup>15</sup>, Vijnovich Barón A<sup>16</sup>, Narbaitz M<sup>17,18</sup>, Pavlovsky A<sup>17,18</sup>.

<sup>1</sup> Htal. Nacional Alejandro Posadas, Bs. As.

<sup>2</sup> Htal. Italiano de La Plata, Bs. As.

<sup>3</sup> HIGA La Plata, Bs. As.

<sup>4</sup> Htal. Italiano de Buenos Aires, CABA.

<sup>5</sup> Htal. Gutiérrez de La Plata, Bs. As.

<sup>6</sup> Htal. El Cruce Néstor Kirchner, Bs. As.

<sup>7</sup> Htal. Maciel, Montevideo, Uruguay.

<sup>8</sup> Htal. De Oncología María Curie, CABA.

<sup>9</sup> Instituto de Oncología Ángel H. Roffo, CABA.

<sup>10</sup> Htal. Emilio Ferreyra de Necochea, Bs. As.

<sup>11</sup> Htal. Universitario Austral, Bs. As.

<sup>12</sup> Htal. Alemán, CABA.

<sup>13</sup> Htal. Privado Universitario, Córdoba.

<sup>14</sup> Sanatorio Allende, Córdoba.

<sup>15</sup> Htal. Gral. San Martín de Paraná, Entre Ríos.

<sup>16</sup> Instituto Alexander Fleming, CABA.

<sup>17</sup> Fundaleu, CABA.

<sup>18</sup> Centro Pavlovsky, CABA.

astridp@intramed.net

patriciohernanpereyra@gmail.com

Fecha recepción: 1/6/2022

Fecha aprobación: 30/6/2022



ARTÍCULO  
ORIGINAL

HEMATOLOGÍA  
Volumen 26 n° 2: 21-26  
Mayo - Agosto 2022

**Palabras claves:** linfomas no Hodgkin T,  
América Latina,  
Proyecto Célula T 2.0.

**Keywords:** T-cell non-Hodgkin lymphomas,  
Latin America,  
T-Cell Project 2.0.

## Resumen

Las neoplasias linfoides T/NK maduras (LNH-T) son infrecuentes y conforman un grupo heterogéneo de enfermedades. En Argentina y en el resto de América Latina no existen datos epidemiológicos sobre la presentación, metodología diagnóstica, esquemas terapéuticos y evolución de los pacientes con LNH-T. Además, debido a su baja incidencia y heterogeneidad, no hay estudios prospectivos ni aleatorizados que evalúen las distintas estrategias terapéuticas. Con el objetivo de mejorar el entendimiento de estas enfermedades surge el *International T-Cell Project 2.0*. Aquí se presentan los resultados preliminares a junio del año 2021.

## Abstract

Mature T/NK lymphoid neoplasms (T-NHL) are infrequent and constitute a heterogeneous group of diseases. In Argentina and the rest of Latin America there is not any epidemiologic data about presentation, diagnostic methodology, therapies, and evolution of patients with T-NHL. Furthermore, because of their low incidence and heterogeneity, there are not prospective randomized trials assessing the different therapeutic strategies. The International T Cell Project 2.0 emerges with the aim of improving the understanding of these diseases. Herein its preliminary results to June 2021 are presented.

## Introducción

Las neoplasias linfoides T/NK maduras (LNH-T) conforman un grupo heterogéneo de enfermedades con características fenotípicas, morfológicas y clínicas heterogéneas. La última clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) del 2016 reconoce 28 subtipos incluyendo entidades cutáneas primarias<sup>(1)</sup>. Estos son infrecuentes y representan el 10 al 15% de los linfomas no Hodgkin (LNH). Se conoce su asociación con factores genéticos/étnicos con una distribución geográfica característica: su prevalencia es mayor en Asia y se estima que también en algunas regiones de Centro y Sur de América<sup>(2)</sup>. Se asocian a pronóstico pobre, con una supervivencia global a 5 años menor al 50%. Debido a su infrecuencia, existen escasos estudios clínicos prospectivos aleatorizados y nuestra práctica diaria se fundamenta principalmente en análisis retrospectivos<sup>(3,4)</sup>.

En el año 2006 surge en Italia el *International T-cell Project 1.0 (ITCP)* liderado por Massimo Federico (hematólogo y profesor de la universidad de Modena y Reggio Emilia), con el objetivo de mejorar el conocimiento de las características clínicas y biológicas de los linfomas T. Este registro permitió registrar más de 1500 linfomas T/NK de todo el mundo. En 2018, debido a cambios en la clasificación de la OMS y a la incorporación de la tomografía por emisión de positrones (PET) como método de evaluación de respuesta, se da paso al inicio del *T-Cell Project 2.0 (TCP 2.0)*, registro internacional que colecta prospectivamente información de pacientes de Europa, Asia, Oceanía, Estados Unidos y América Latina. Al momento del último cierre de información existían 18 países activos; de América del sur participan Argentina, Chile, Uruguay, Brasil y Perú. En nuestro país no existe a la fecha un registro de estas neoplasias infrecuentes.

## Objetivos del TCP 2.0 en Argentina y América Latina.

1. Determinar la prevalencia de los distintos subtipos de LNH-T en Latinoamérica.
2. Describir las estrategias terapéuticas utilizadas.
3. Evaluar el índice de respuestas globales (RG) y completas (RC).
4. Describir la supervivencia libre de eventos (SLE) y supervivencia global (SG) a 6, 12 y 24 meses.

## Material y métodos

Estudio prospectivo, observacional e internacional con recolección de información a partir del e-CRF (*electronic Case Report Forms*) del TCP 2.0. Este estudio incluye el Registro Latinoamericano Prospectivo de LNH-T, creado dentro del marco de la Sociedad Argentina de Hematología, con el apoyo del TCP 2.0.

## Resultados

Análisis interino llevado a cabo en junio del 2021. A partir de 2018 se registraron 648 pacientes (630 evaluables) de 75 centros activos del mundo con la siguiente distribución geográfica: América Latina n=385, Oceanía n=159, Europa n=57, Estados Unidos n=17 y Asia n=12 (Gráfico 1). Brasil cuenta con un registro propio previo al inicio del TCP 2.0 que es luego incorporado a la información recolectada a nivel mundial.

Los pacientes de América Latina (excluyendo Brasil) representaron el 13,5% (con Brasil el 61%), correspondiendo el 47,8% a Brasil, el 12,1% a Argentina, el 0,8% a Chile, 0,5% a Perú y el 0,2% a Uruguay. La edad media al diagnóstico fue de 55 años (rango 18-92), siendo similar en todos los países. La distribución por sexo tampoco evidenció diferencias según las áreas geográficas, correspondiendo el 59% al sexo masculino. En toda la población latinoamericana, el subtipo más frecuente fue el LNH-T periférico NOS (LNHTP NOS), seguido del linfoma anaplásico de células grandes (LACG) ALK-negativo, angioinmunoblástico (LTAI), LNH-T/NK, linfoma/leucemia T del adulto (LLTA) y el LACG ALK positivo, representando el 31%, 19%, 13%, 12%, 10% y 9% respectivamente (Gráfico 2).

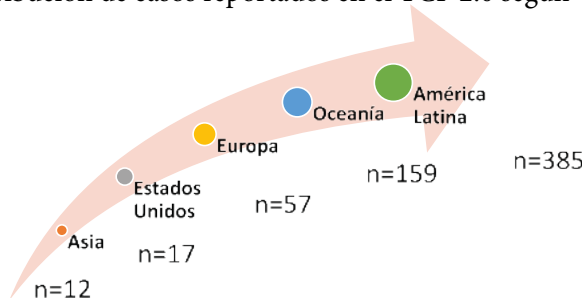
Brasil reportó la mayor frecuencia de LLTA (n=46, 75%) y LNH-T/NK (n=39, 53%). El LACG ALK-negativo (n=40, 25%) y LTAI (n=25, 16%) fueron más frecuentes en Oceanía y el angioinmunoblástico en Europa y Estados Unidos (18% y 24%

respectivamente) (Gráfico 3).

En lo que respecta a la Argentina, nuestro país ha registrado 76 pacientes al momento de este análisis interino, con 32 centros activos, representando el 12% de las neoplasias T/NK de los 5 continentes (Gráfico 4). La edad media al diagnóstico fue de 54 años con una relación hombre:mujer de 1.6. La distribución de los diagnósticos más frecuentes fue la siguiente: LNHTP NOS 34% (n=26), LACG ALK negativo 15.8% (n=12), LACG ALK positivo 11.8% (n=9), LTAI 9% (n=7) y LLTA 6.6% (n=3). El resto de los diagnósticos (linfomas T asociado a enteropatía, linfomas NK tipo nasal, linfoma T monomórfico epiteliotrópico intestinal, linfoma linfoepitelioide, LACG asociado a implante mamario, linfoma T hepatoesplénico y leucemia de linfocitos grandes granulares) representaron individualmente menos del 5% del total (Gráfico 5).

El 60% de nuestros pacientes presentó estadios avanzados al debut de la enfermedad con compromiso extranodal (exceptuando médula ósea) en el 55% y compromiso de médula ósea en el 25%. En el 92% de los

**Gráfico 1.** Distribución de casos reportados en el TCP 2.0 según región geográfica.



**Gráfico 2.** Prevalencia de los subtipos de LNH T/NK en el mundo según análisis interino del TCP 2.0.

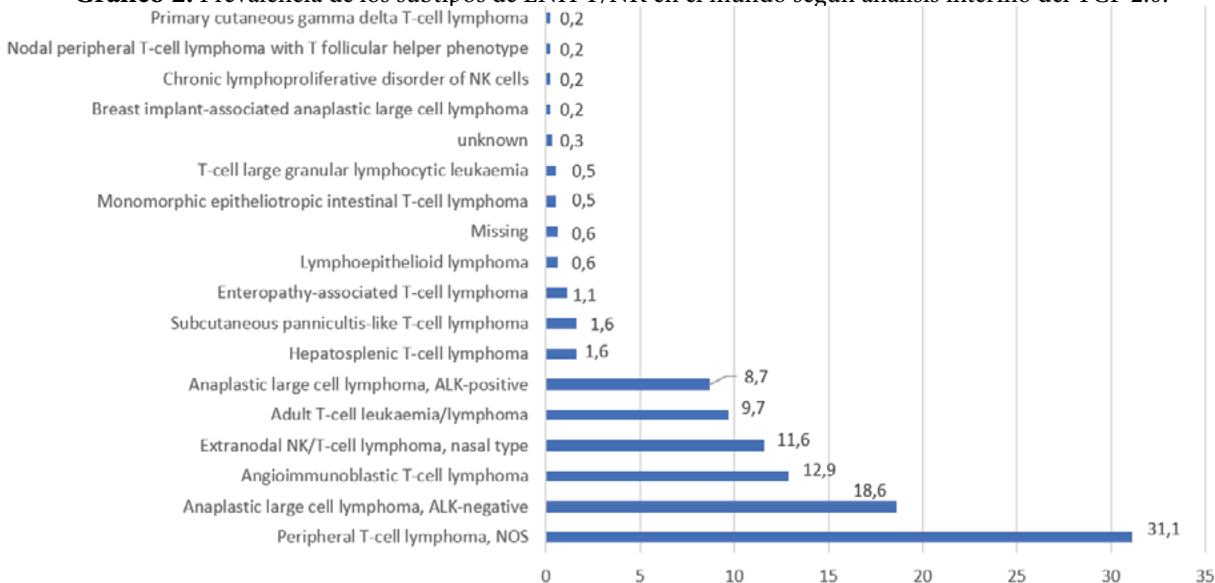


Gráfico 3. Distribución de los subtipos de linfomas T/NK según cada continente.

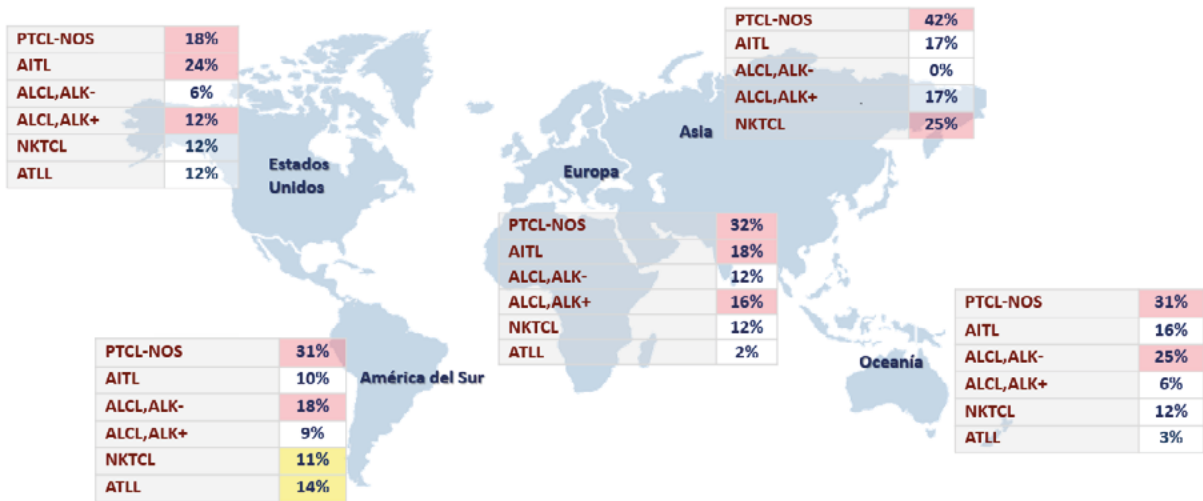


Gráfico 4. Centros activos en Argentina.

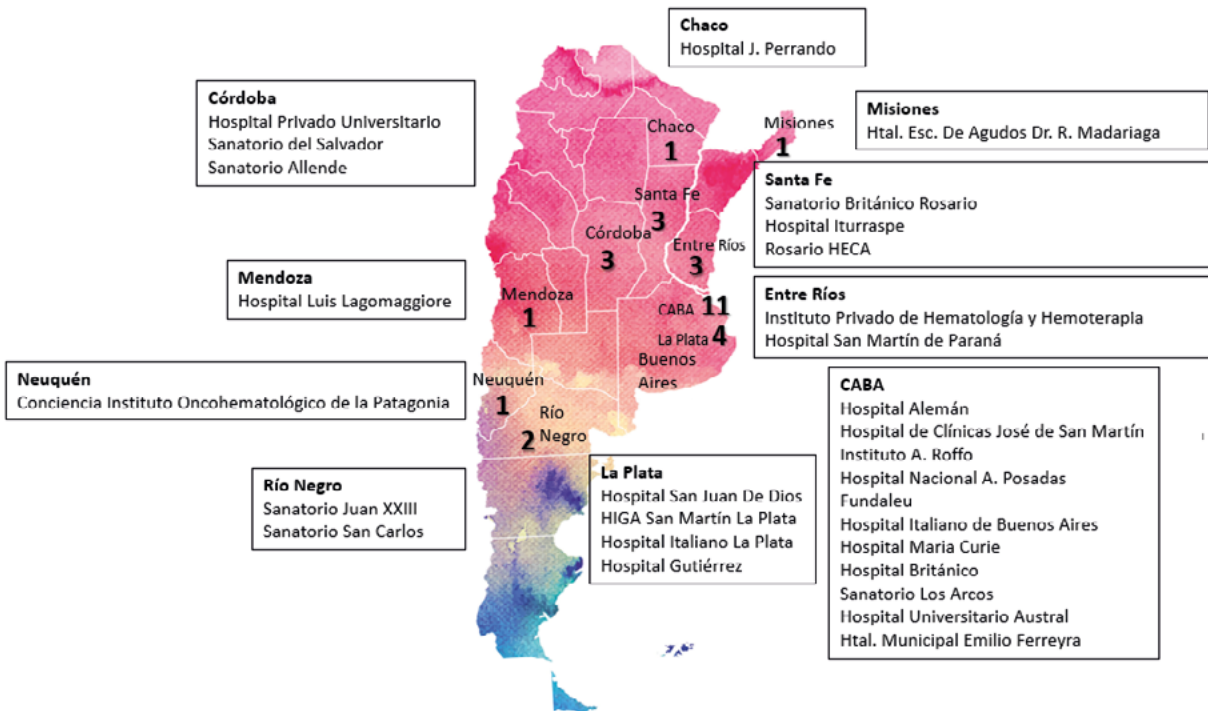


Gráfico 5. Distribución de los subtipos de linfomas T/NK en Argentina.



casos se indicó tratamiento con quimioterapia, de los cuales el 80% contenía antraciclínicos, y solamente 2 pacientes recibieron radioterapia. El 15% se consolidó con trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TACPH). Con las estrategias antes mencionadas el 48% alcanzó remisión completa, 22% remisión

parcial, 20% enfermedad progresiva y 10% se informó como respuesta indeterminada (Tablas 1 y 2). Con un corto tiempo de seguimiento a la fecha (mediana de 8.2 meses) la mediana de sobrevida global en la curva de Kaplan Meier no ha sido alcanzada (Gráfico 6).

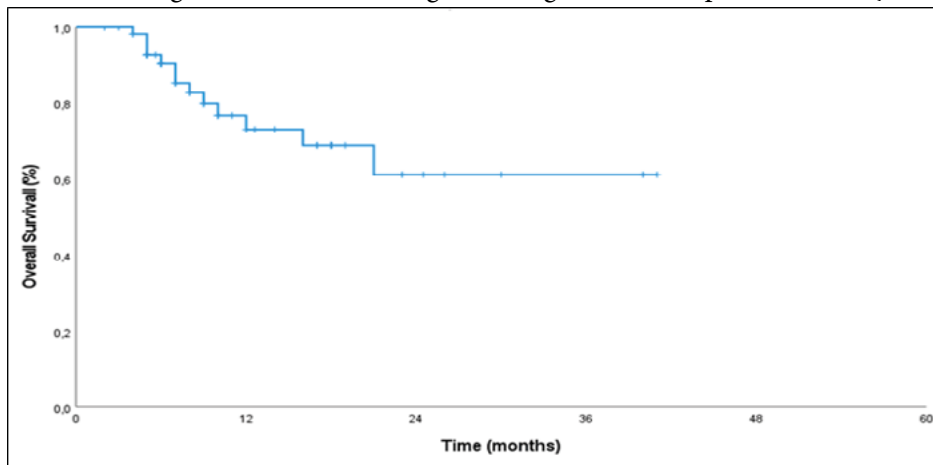
**Tabla 1.** Principales características clínicas de los pacientes con linfomas T/NK en Argentina

Parámetros	N	%
Estadio III/IV	46	60
ECOG/PS > 2	2	2.6
Compromiso EN	41	54
Compromiso MO	19	25
Síntomas B	58	76
LDH > LSN	55	72
Hb < 12 g/dL	19	25
Plaquetas < 150.000/mm3	10	13

**Tabla 2.** Tratamientos y respuestas en Argentina.

Tratamiento	N	%
Quimioterapia convencional	70	92 (80% con antraciclinas)
Radioterapia	2	2.6
Consolidación con TACPH (N 71)	11	15.5%
<b>Respuesta (N=69)</b>		
• Completa	33	48
• Parcial	15	22
• Enfermedad progresiva	14	20
• Indeterminada	7	10
<b>Estado (N=60)</b>		
• Vivo	44	74
• Muerto	15	25
• Pérdida de seguimiento	1	1

**Gráfico 6.** Sobrevida global estimada en Argentina según los datos preliminares a junio de 2021.



## Discusión

Se observan variaciones en la frecuencia de los distintos subtipos según el área geográfica, especialmente entre América Latina y Europa. El subtipo más frecuente en todas las regiones del mundo fue el LNHTP NOS.

En Argentina la prevalencia de los distintos subtipos de linfomas T/NK es similar a la descripta en estudios europeos y norteamericanos. En nuestro país la mayoría de los pacientes fue tratado con esquemas de quimioterapia con antraciclínicos (al momento del análisis no contamos con información con respecto al uso de brentuximab vedotin) y la minoría recibió radioterapia y consolidación con TAPH. Aproximadamente la mitad de los pacientes alcanzó RC y la SG proyectada a 24 meses es del 61%.

A fin de generar una revisión de los diagnósticos realizados se creó una base de datos internacional

con base en Miami a donde se envían imágenes escaneadas del vidrio de anatomía patológica. Para esto se solicita a los patólogos el préstamo temporal de los vidrios y se generó un arreglo con un centro de escaneo en Buenos Aires. La Argentina ha comenzado a intervenir en dicho proceso.

Además, el TCP 2.0 aspira a futuro recolectar muestras de sangre al diagnóstico (biopsia líquida), final de tratamiento y seguimiento, y llevar a cabo una revisión centralizada del PET/TC (estadificación y fin de tratamiento).

Resulta importante continuar con el registro de estos pacientes para contribuir al mejor entendimiento y al avance de métodos diagnósticos y terapéuticos de los LNH-T. En el año 2022 el TCP 2.0 tiene como objetivos continuar con dicho registro aumentando la cantidad de centros activos como así también el número de países participantes.

**Conflictos de interés:** Arriola J declara haber recibido honorarios por parte de Takeda por concepto de actividades educativas y por parte de Takeda, Sanofi, Janssen y Raffo por concepto de asesoría / consultoría. Mahuad C declara haber recibido honorarios por parte de Takeda, Raffo, Roche, Abbvie, AstraZeneca y Janssen por concepto de conferencias y actividades educativas. Cugliari MS declara haber recibido honorarios por parte de Abbvie, Janssen, Roche, Genzyme, Sandoz, Takeda y AstraZeneca por concepto de conferencias, actividades educativas y asesorías en las que ha participado. Fiad L declara haber recibido honorarios por parte de Takeda y Roche por concepto de actividades educativas. Alfonso G declara haber recibido honorarios por parte de Raffo y Novartis por concepto de asesoría / consultoría. Márquez M declara haber recibido honorarios por parte de Roche, Servier, Abbvie, y Takeda por concepto de asesorías y por parte de Janssen y Takeda por concepto de actividad educativa. Narbaitz M declara haber recibido honorarios por parte de Takeda por concepto de conferencias y actividades educativas en las que ha participado. Pavlovsky A declara haber recibido honorarios para un miembro de su equipo quien trabaja para el registro del T-Cell Project colaborando con los centros participantes en el cargado de datos. Trucco J declara haber recibido honorarios por parte de AstraZeneca, Raffo y Takeda por concepto de conferencias y actividades educativas en las que ha participado. Vijnovich Barón A declara haber recibido honorarios por parte de Novartis por concepto de conferencias.

## Bibliografía

1. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA y col. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016; 127(20):2375-2390.
2. Adams SV, Newcomb PA, Shustov AR. Racial patterns of peripheral T-Cell Lymphomas incidence and survival in the United States. *J Clin Oncol*. 2016;34(9):963-971.
3. Vose JM. Peripheral T-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2008;22(5):997-1005.
4. Vose J, Armitage J, Weisenburger D. International T-Cell Lymphoma Project. International peripheral T-cell and natural killer/T-cell lymphoma study: pathology findings and clinical outcomes. *J Clin Oncol*. 2008;26(25):4124-30.



**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.

# kemex

laboratorio

*Compañía líder en la producción de medicamentos oncológicos y oncohematológicos, inyectables y orales*



# Aplicación de la separación celular para la identificación de factores de riesgo genético en mieloma múltiple: un estudio de la vida real



ARTÍCULO ORIGINAL

Application of cell sorting for genetic risk factors identification in patients with multiple myeloma: a real life study

Lang C<sup>1,2</sup>, Maradei J<sup>2,3</sup>, Beccacece M<sup>2,4</sup>, Furque A<sup>2,5</sup>, Encina T<sup>1</sup>, Pombo P<sup>1,6</sup>, Remaggi G<sup>7,8</sup>, Ochoa P<sup>9</sup>, López Ares L<sup>2,10</sup>, Colucci M<sup>2,11</sup>, De Paul N<sup>12</sup>, Rios Sant F<sup>12</sup>, Vázquez M<sup>12</sup>, Lemuñir P<sup>12</sup>, Boughen S<sup>2,13</sup>, Brandt M<sup>2,6,14</sup>, Calmet, R<sup>2,15</sup>, Castello C<sup>2,16,17</sup>, Ferreras R C<sup>2,18,19,27</sup>, Giarini P<sup>19</sup>, Jones L<sup>2,20,21</sup>, Martin N<sup>27</sup>, Moro D<sup>2,22</sup>, Pasquali J<sup>2,23</sup>, Rios Part M<sup>2,24</sup>, Di Chiara R<sup>2</sup>, Taborda G<sup>2,25</sup>, Venchi R<sup>2,10</sup>, Sandoval M<sup>28</sup>, Iommi M<sup>1,2</sup>, Torreguitart F<sup>1,2</sup>, Agriello E<sup>1,2,6,28</sup>, Milone J<sup>29</sup>.

HEMATOLOGÍA  
Volumen 26 n° 2: 28-35  
Mayo - Agosto 2022

<sup>1</sup> Laboratorio de Especialidades Bioquímicas (LEB), Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup> Grupo Hematológico del Sur (GHS).

<sup>3</sup> Hospital Emilio Ferreyra, Necochea, Buenos Aires, Argentina.

<sup>4</sup> Hospital Privado Dr. Raúl Matera, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

<sup>5</sup> Sanatorio San Carlos, Bariloche, Río Negro, Argentina.

<sup>6</sup> H.I.G.A. Dr. José Penna, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

<sup>7</sup> Fundaleu, C.A.B.A., Buenos Aires, Argentina.

<sup>8</sup> Centro de Hematología Pavlovsky, C.A.B.A., Buenos Aires, Argentina.

<sup>9</sup> Instituto Alexander Fleming, C.A.B.A., Buenos Aires, Argentina.

<sup>10</sup> Sanatorio Juan XXIII, General Roca, Río Negro, Argentina.

<sup>11</sup> Conciencia, Neuquén, Neuquén, Argentina.

<sup>12</sup> Hospital Provincial Neuquén Dr. Castro Rendón, Neuquén, Neuquén, Argentina.

<sup>13</sup> Hospital Municipal Dr. Leónidas Lucero, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

<sup>14</sup> Instituto Lavalle, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

<sup>15</sup> Hospital Municipal "Eustoquio Díaz Vélez", Rauch, Buenos Aires, Argentina.

<sup>16</sup> Hospital Privado Regional del Sur, Bariloche, Río Negro, Argentina.

<sup>17</sup> Consultorios de Especialidades Médicas Morales (CEMM), Bariloche, Río Negro, Argentina.

<sup>18</sup> Clínica Privada Pueyrredón, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

<sup>19</sup> H.I.G.A. Dr. Oscar E. Alende, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

<sup>20</sup> Hemocentro Esquel, Esquel, Chubut, Argentina.

<sup>21</sup> Hospital Zonal de Esquel, Esquel, Chubut, Argentina.

<sup>22</sup> HemoMadryn, Chubut, Argentina.

<sup>23</sup> Hospital Zonal Dr. Ramón Carrillo, Bariloche, Río Negro, Argentina.

<sup>24</sup> Clínica Del Valle Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina.

<sup>25</sup> Policlínico Modelo de Cipolletti, Río Negro, Argentina.

<sup>26</sup> Clínica Colon, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

<sup>27</sup> Clínica 25 de Mayo, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

<sup>28</sup> Cátedra de Hematología Clínica, Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

<sup>29</sup> Hospital Italiano de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

citogenetica@leblaboratorio.com.ar; cecilang11@gmail.com;  
maradeijuan@hotmail.com

Fecha recepción: 30/5/2022

Fecha aprobación: 30/6/2022

**Palabras claves:** separación celular, mieloma múltiple, hibridación in situ, alteraciones citogenéticas.

**Keywords:** cell sorting, multiple myeloma, in situ hybridization, cytogenetic abnormalities.

### Introducción

El mieloma múltiple (MM) es una neoplasia hematológica maligna que se caracteriza por su gran heterogeneidad biológica y por su evolución clínica variable. Los factores pronósticos (FP) constituyen una herramienta fundamental que permiten estimar la supervivencia y elaborar una estrategia de tratamiento, entre los cuales se destacan: a) las alteraciones citogenéticas (AC) y el perfil de expresión génica (GEP), y b) la respuesta al tratamiento, a través del dosaje de cadenas livianas libres en suero, los estudios de imágenes y la detección de enfermedad residual medible (ERM) por citometría de flujo multiparamétrica.

Las AC tienen un impacto directo sobre el pronóstico y las decisiones terapéuticas, y pueden dividirse en primarias y secundarias. Las AC primarias comprenden la hiperdiploidía (HD), es decir trisomías de algunos cromosomas impares, y las translocaciones que involucran al gen de la cadena pesada de inmunoglobulina (IGH) en 14q32. De las trisomías posibles, sólo tres han demostrado modular el ries-

go: la trisomía de los cromosomas 3 y 5 mejoran la supervivencia global en comparación con los MM no hiperdiploides, mientras que la trisomía 21 provoca el efecto contrario. Las AC secundarias incluyen la delección de 17p (*TP53*), las aneuploidías del cromosoma 1 (delecciones de 1p y/o ganancias de 1q), las translocaciones del gen *MYC* y la monosomía del cromosoma 13 o delección de 13q14. Estas alteraciones secundarias suelen aparecer en subpoblaciones de células plasmáticas y se asocian con menor supervivencia, curso clínico agresivo y presencia de enfermedad extramedular<sup>(1)</sup>. El significado pronóstico de estos subclones depende de su tamaño: para el caso de la delección de 17p (*TP53*) algunos autores sostienen que 50-60% sería el punto de corte que afecta realmente como factor de riesgo adverso para los pacientes<sup>(2)</sup>.

Las AC permiten dividir a los pacientes en 2 grupos de riesgo con diferente pronóstico y enfoque terapéutico (ver tabla 1). Los pacientes de riesgo alto presentan peor pronóstico que los de riesgo estándar.

**Tabla 1.** Alteraciones citogenéticas en MM. Modificado de Rajkumar<sup>(3)</sup>

Riesgo alto (20-25%)	Genes involucrados	Frecuencia
t(4;14)(p16;q32) (FISH)	<i>IGH-FGFR3/MMSET</i>	15%
t(14;16)(q32;23) (FISH)	<i>IGH-MAF</i>	5%
t(14;20)(q32;q11) (FISH)	<i>IGH-MAFB</i>	1%
Ganancia 1q (citogenética o FISH)	<i>CKS1B</i> y otros	35-40%
del(1p) (citogenética o FISH)	<i>CDKN2C</i> y otros	30%
del(17)(p13.1) (FISH)	<i>TP53</i>	10%
Double Hit *	<i>TP53, CKS1B</i> y otros	6%
Cariotipo Complejo **		
<b>Riesgo estándar (75-80%)</b>		
Hiperdiploidía ***		42%
t(11;14)(q13;q32) (citogenética o FISH)	<i>IGH-CCND1</i>	15%
t(6;14)(p21;q32) (FISH)	<i>IGH-CCND3</i>	5%

\*Double Hit: a) inactivación bialélica de *TP53* (delección en un alelo y mutación en el otro) o, b) estadio clínico ISS III con amplificación de 1q21 ( $\geq 4$  copias). (Walker et al. 2019)

\*\* Más de 3 anomalías cromosómicas.

\*\*\* Trisomías 3, 5, 9, 11, 15, 19 y/o 21

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

dar, con una supervivencia estimada de 3 vs. 10 años respectivamente, por lo cual es importante identificarlos para ofrecerles estrategias terapéuticas más agresivas.

El estudio citogenético convencional por bandeo G proporciona una visión global de las posibles anomalías cromosómicas (presencia de trisomías, cariotipo complejo, alteraciones asociadas a displasia concomitante), mientras que la hibridación fluorescente *in situ* (FISH) usando sondas específicas permite la evaluación de AC específicas, mejorando sustancialmente la sensibilidad de detección de las mismas. Actualmente la técnica de elección para la detección de AC en el MM, tanto en la evaluación diagnóstica inicial como en las evaluaciones posteriores, es FISH sobre células plasmáticas seleccionadas, es decir, sobre una muestra con muy alta pureza de las células plasmáticas<sup>(4)</sup>. Existen diferentes métodos para la separación de células (*cell sorting*), de los cuales el más eficiente es la citometría de flujo multiparamétrica (CFM).

Los sistemas de estadificación de riesgo en MM han ido evolucionando con el conocimiento de la enfermedad. El índice de Durie-Salmon fue sustituido primero por el *International Staging System* (ISS), basado en el nivel de  $\beta$ 2microglobulina y albúmina en suero<sup>(6)</sup>, y luego en 2016 por el *Revised International Staging System* (R-ISS). El R-ISS es el primer índice que incluye a las AC como factor de riesgo, junto con la LDH, dividiendo a los pacientes en 3 grupos con diferente pronóstico (SLP: 62 meses para el estadio I, 44 meses para el estadio II y 29 meses para el estadio III)<sup>(3,7)</sup> (ver tabla 2).

Sin embargo, la definición actual de riesgo citogenético resulta demasiado simple por estar basada en unas pocas AC, a las cuales además se les asigna

igual importancia como factor pronóstico, ya sean favorables o adversas. Perrot et al. desarrollaron y validaron un índice de pronóstico (IP) citogenético que incluye las trisomías 3, 5, 21 y la del(1p32) que hasta el momento no habían sido incorporadas debido a que no se había demostrado aún su impacto en el pronóstico. Pero este IP se desarrolló dentro del contexto de ensayos clínicos, por lo cual resta aún adaptarlo a la práctica clínica diaria<sup>(8)</sup>. La incorporación de tecnologías más avanzadas para el estudio de las alteraciones genéticas en el MM permitirá una definición más precisa de los marcadores pronósticos, posibilitando la implementación de mejores estrategias terapéuticas.

Los objetivos del presente estudio fueron: a) demostrar la utilidad de la separación celular previa a los estudios de FISH para aumentar la sensibilidad de detección de AC en pacientes con MM, aplicándolo en la práctica de la vida real; b) mostrar los resultados obtenidos luego de 4 años de experiencia a través de la evolución de las técnicas de separación celular y FISH, y compararlos con los reportados en la literatura.

### Materiales y métodos

Se realizó un análisis retrospectivo a partir de la revisión de resultados de pacientes con diagnóstico de MM entre los años 2018 y 2021. Los criterios para el diagnóstico de MM se basaron en las manifestaciones clínicas, los estudios de imágenes y de laboratorio, de acuerdo a los lineamientos de IMWG<sup>(9)</sup>. Se evaluaron las características de la presentación clínica y las variables biológicas cuantitativas a través de la recopilación de datos, y la estadificación de riesgo de acuerdo al R-ISS<sup>(7)</sup>. La identificación y cuantificación de células plasmáticas aberrantes se realizó por

**Tabla 2.** Estadificaciones de riesgo ISS y R-ISS

ISS	SG a 5 años (%)
Estadio I: $\beta$ 2M < 3.5 mg/L; albúmina sérica $\geq$ 3.5 g/dL	77
Estadio II: $\beta$ 2M < 3.5 mg/L; albúmina sérica < 3.5 g/dL; o $\beta$ 2M 3.5 a 5.5 mg/L, independientemente del valor de albúmina	62
Estadio III: $\beta$ 2M > 5.5 mg/L	47
R-ISS	
Estadio I: ISS I y riesgo citogenético estándar por FISH y LDH normal	82
Estadio II: no R-ISS I ni R-ISS III	62
Estadio III: ISS III y alto riesgo citogenético* por FISH o LDH mayor al LSN	40

SG: supervivencia global; LSN: límite superior normal; \*AC de alto riesgo: del17p, t(4;14) y t(14;16).

citometría de flujo multiparamétrica (CFM) con panel a 8 colores según EuroFlow. Las alteraciones citogenéticas con impacto sobre el pronóstico fueron evaluadas por FISH, y el estudio del índice de ADN (ploidía) se realizó por CFM. Los pacientes fueron divididos en dos grupos de acuerdo a si los estudios por FISH se realizaron sobre la población de células plasmáticas purificadas (grupo S) o sobre la muestra entera (grupo NS). El análisis estadístico se realizó utilizando las herramientas del programa SPSS 23. Para el análisis de proporciones independientes se aplicó el test Chi Cuadrado y se consideró un valor de  $p < 0.05$  como estadísticamente significativo.

#### Separación de células plasmáticas por CFM (Sorting)

El proceso de separación celular consiste en la separación física de las células plasmáticas del total de células presentes en la muestra de médula ósea en base a la expresión diferencial de parámetros analizables (tamaño y granularidad, marcación inmunofenotípica). Se realiza en un citómetro separador que permite identificarlas y colectarlas en un tubo distinto del resto de las células de la muestra, obteniendo así una suspensión celular con alta pureza de CP. Con las células colectadas se realizan los estudios para la evaluación de las AC por FISH (ver Figura 1).

En nuestro laboratorio se utilizaron dos citómetros separadores: un citómetro FACS Sort Melody (BD) en una primera etapa (años 2019-2019, 62 pacientes), y luego un FACS Aria (BD) (año 2020-2021, 147 pacientes).

#### Hibridación fluorescente in situ (FISH)

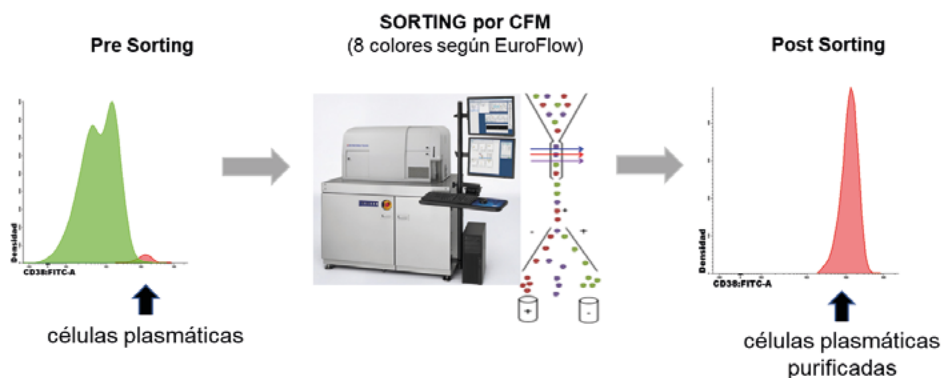
El estudio por FISH se realizó sobre núcleos interfásicos, de acuerdo con especificaciones del fabricante, utilizando un panel básico de mieloma múltiple:

IGH BA (sonda de dos colores, para detectar reordenamientos del gen de la cadena pesada de inmunoglobulina); TP53/CEP17 (sonda de dos colores, para monosomía 17/delección 17p); CDKN2C/CKS1B (sonda de dos colores, para detectar aneuploidías de 1p y/o 1q). Los pacientes que presentaban rearrreglos de IGH fueron estudiados para evaluar la presencia de traslocaciones con impacto pronóstico/terapéutico con sondas específicas de dos colores y doble fusión: IGH/FGFR3, t(4;14)(p16.3;q32.3); IGH/MAF, t(14;16)(q32;23); IGH/MAFB, t(14;20)(q32;q12) e IGH/CCND1 XT, t(11;14)(q13;q32). La observación microscópica se realizó en un microscopio de fluorescencia bajo lente de inmersión en aceite (100X) (Nikon Eclipse 50i), usando diferentes filtros de acuerdo al fluorocromo, y las imágenes fueron capturadas y analizadas mediante el programa *Applied Spectral Imaging Systems* (FISH View version 6.0). En los pacientes del grupo NS se observaron 200 núcleos para cada sonda y en los del grupo S al menos 50 núcleos en interfase para las alteraciones primarias (IGH y traslocaciones) y 100 núcleos para las secundarias (del17p y del1p/gan1q)<sup>(2)</sup>. Los resultados fueron interpretados de acuerdo a los lineamientos de *European Myeloma Network*, siendo el valor de corte positivo  $>10\%$  para la detección de alteraciones primarias, y  $>20\%$  para las secundarias<sup>(4)</sup>.

#### Resultados

Se incluyeron 350 pacientes con una edad promedio de 61 años (rango: 28-89), 200 hombres y 150 mujeres, con una relación entre ambos de 1,3:1. La estratificación de riesgo se distribuyó de acuerdo a Durie y Salmon: 29% (I), 27% (II), 44% (III), y de acuerdo al RISS: 29% (I), 61% (II), 10% (III). Se observó anemia ( $Hb < 10.5$  gr/dL) en 53% y niveles de

**Figura 1.** Selección de células plasmáticas por CFM, con pureza  $>90\%$ .



LDH superiores al normal en 22% de los pacientes. El 68% presentó compromiso óseo, y 25% compromiso renal (creatininemia >2 mg/dL), la mitad de ellos clasificados como estadios avanzados (IIIB). El componente monoclonal identificado demostró que el isotipo más frecuente fue IgG (53%, 37% kappa y 16% lambda) seguido de IgA (29%, 21% kappa y 8% lambda), dos casos presentaron el isotipo IgD y un caso IgM. El 16% fueron MM a cadenas livianas, 10% lambda y 6% kappa. Las características clínicas se muestran en la tabla 2.

El estudio del índice de ADN mostró 32% de pacientes con hiperdiploidía (índice de ADN >1.08). Todos los pacientes fueron estudiados para evaluar la presencia de AC por FISH sobre núcleos interfásicos, divididos en dos grupos: 209 pacientes con separación previa a la hibridación (S) y 141 pacientes

sobre la muestra total (NS). Utilizando la separación celular se obtuvieron muestras enriquecidas en células plasmáticas con una pureza de 87 a 96%. Se detectaron AC en 36% de los pacientes en el grupo NS y en 61% de los pacientes del grupo S. Es importante destacar que, por ser una experiencia de la vida real, no todos los pacientes fueron estudiados para todas las AC y, por lo tanto, los resultados estarán expresados con respecto al número de pacientes estudiados en cada caso. Considerando como valor de corte la presencia de más de 10% de núcleos positivos para rearrreglos de IGH y más de 20% de núcleos positivos para las AC secundarias (*TP53* y anomalías del cromosoma 1), la incidencia de cada una de las alteraciones estudiadas para el grupo NS vs. S fue: 2.9% vs. 10.9% (4/140 vs. 22/201) para la delección de *TP53*; 22.2% vs. 48.1% (24/108 vs. 64/133) para rearrreglos

**Tabla 2.** Características demográficas y de laboratorio\*

Característica	NS (sin separación)	S (con separación)
<b>Isotipo</b>	n=54	n=81
IgG	57%	58%
IgA	33%	29%
IgD	2%	1%
IgM	0%	1%
Cadenas livianas	7%	11%
Kappa	0%	7%
Lambda	7%	4%
<b>Estadio ISS</b>	n=59	n=76
I	27%	42%
II	39%	32%
III	34%	26%
<b>Enfermedad ósea</b>	n=59	n=88
No	32%	32%
Si	68%	68%
<b>Creatinina (mg/dl)</b>	n=61	n=89
<2	77%	79%
>2	23%	21%
<b>LDH</b>	n=56	n=84
normal	86%	71%
>1.5 LSN	11%	23%
>2 LSN	4%	4%
>3 LSN	0%	2%

LSN: límite superior normal, \*la variabilidad del n en cada caso depende de los datos recolectados.

del gen *IGH*; y 18.6% vs. 31% (16/86 vs. 49/158) para del1p/gan1q. Si, en cambio, se considera como valor de corte la presencia de más de 50% de núcleos positivos para la delección de TP53 los resultados obtenidos serían 0.7% vs. 7.5% (1/140 vs. 15/201) para el grupo NS y S respectivamente (ver figura 2).

En el total de los pacientes con rearrreglos de *IGH* se identificaron las traslocaciones t(4;14) en 11%, t(14;16) en 2% y t(11;14) en 7%, mientras que no se hallaron pacientes con t(14;20), y dos pacientes presentaron otra translocación de *IGH* en la que no fue posible identificar el gen emparentado con las sondas utilizadas. Tomando únicamente los pacientes del grupo S, se identificaron las traslocaciones t(4;14) en 16%, t(14;16) en 2% y t(11;14) en 11%. De las alteraciones del cromosoma 1 la más frecuentemente hallada fue la ganancia de 1q (CKS1Bx3) (27%), y con menor frecuencia la delección de 1p (4%) y amplificación de 1q (CKS1Bx≥4) (4%), y se observó un 3% de los pacientes con presencia concomitante de gan1q y del1p. Dos de los 10 pacientes que presentaron amp1q

tenían un índice de riesgo ISS de 3, y pertenecerían al grupo denominado *MM Double Hit* de acuerdo a la publicación de Walker et al<sup>(5)</sup>. El número de AC halladas en un mismo paciente para el grupo NS vs. S fue: 1 AC en 25% vs. 44% (23/92 vs. 75/170); 2 AC en 10% vs. 14% (9/92 vs. 24/170); 3 AC en 1% vs. 2% (1/92 vs. 4/170) (ver Figura 3).

La presencia de rearrreglos de *IGH* de forma concomitante a la hiperdiploidía se observó en 17% de los pacientes estudiados.

Si se comparan los resultados obtenidos en los períodos 2018-2019 y 2020-2021 podemos ver que la sensibilidad de detección de AC mejoró en la segunda etapa, en la cual la incidencia para el grupo NS vs. S fue: 7.1% vs. 11.5% para la delección de *TP53* (1.8% vs. 9.7% considerando más de 50% de núcleos positivos); 41.3% vs. 58.7% para rearrreglos del gen *IGH*; y 39.5% vs. 27.8% para del1p/gan1q. La presencia de 2 y 3 AC en un mismo paciente fue hallada en 11.8% vs. 15% y 0% vs. 3.3% respectivamente en ambos períodos (ver figura 4).

Figura 2. Frecuencia de AC en los grupos S y NS

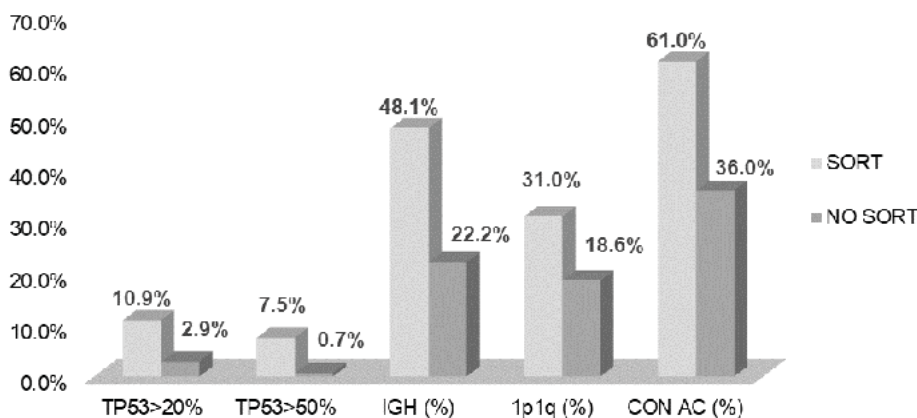
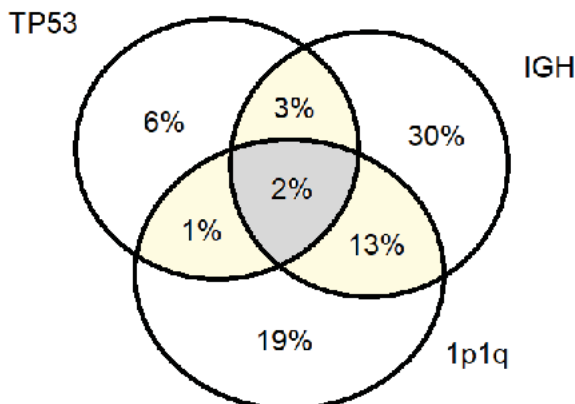


Figura 3. Frecuencia de alteraciones citogenéticas concomitantes.



## Discusión

El presente es un análisis retrospectivo en el cual se comparan resultados de estudios citogenéticos entre dos grupos (NS y S) que, si bien tienen diferencias en el número total de pacientes, presentan características clínicas y demográficas semejantes. La mediana de edad general de los pacientes es más baja en comparación con la de los países desarrollados, pero coincide con la reportada en otros estudios de pacientes latinoamericanos, así como también los parámetros clínicos al diagnóstico.

La proporción de pacientes con hiperdiploidía es más baja que la reportada en la literatura (32% vs ~40%), lo que puede explicarse por el promedio de edad de los pacientes en esta cohorte, ya que los hiperdiploides son por lo general los de mayor edad. El estudio del índice de ploidía por CFM no requiere de células purificadas y debido a su relevancia como factor pronóstico debería ser incluido en la evaluación inicial de todos los pacientes con MM.

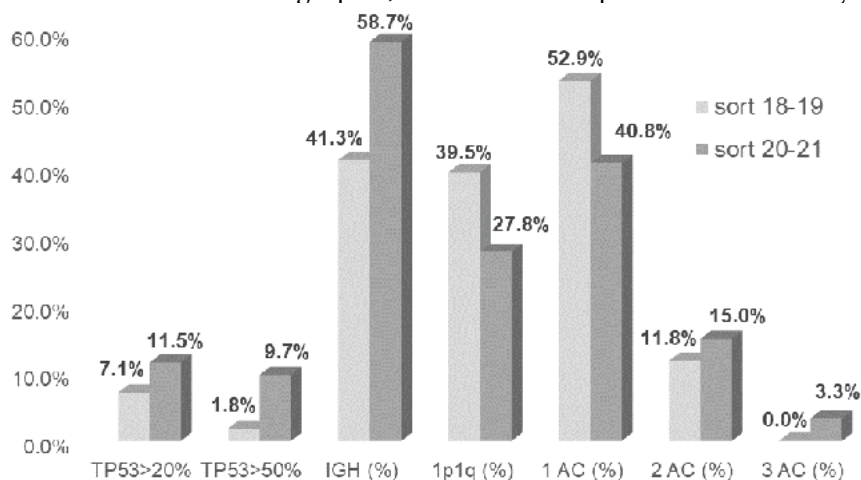
La purificación de células plasmáticas por citometría de flujo permitió mejorar la sensibilidad de detección de alteraciones citogenéticas en general, logrando duplicar (de 36% a 61%) el porcentaje de pacientes con alguna AC. En particular, esas diferencias fueron estadísticamente significativas para la detección de deleciones de *TP53* ( $p=0.004$ ) y rearrreglos de *IGH* ( $p<0.001$ ).

Para evaluar la frecuencia de AC en nuestra cohorte de pacientes solo analizamos los resultados obtenidos en el grupo S debido a que la separación celular es el estándar para la detección de las mis-

mas en todos los trabajos publicados. La frecuencia de las translocaciones  $t(4;14)$  y  $t(14;16)$  son comparables a los reportados en la literatura, mientras que para la  $t(11;14)$  es un poco inferior (11% vs. 15%). Esta diferencia puede ser debida a que 17% de pacientes con rearrreglo de *IGH* no fueron estudiados posteriormente por FISH para identificar la translocación, o sólo se evaluaron las  $t(4;14)$  y  $t(14;16)$  (de mal pronóstico). La ausencia de  $t(14;20)$  puede explicarse por su baja incidencia global en MM. La frecuencia de  $del(17p)$  (*TP53*), tomando como valor de corte el 20% de núcleos positivos, es similar a la reportada por otros autores (10.9%). Al elevar el punto de corte a 50% de núcleos positivos, indicado como el valor por encima del cual la  $del(17p)$  afecta realmente como factor de riesgo adverso<sup>(2)</sup>, el porcentaje de nuestros pacientes con la deleción es de 7.5%.

Para el análisis de los resultados con la implementación de la separación celular hemos dividido el tiempo en dos períodos, 2018-2019 y 2020-2021, ya que se utilizaron dos citómetros distintos (FACS Sort Melody (BD) y FACS Aria (BD)). En la segunda etapa se observó un aumento en la sensibilidad de detección de deleciones de *TP53* y rearrreglos de *IGH*, y también en la detección de alteraciones combinadas, siendo mayor la cantidad de pacientes con más de 1 AC (2 y 3 AC concomitantes) con respecto al primer período. Contrariamente, las alteraciones del cromosoma 1 se detectaron en mayor porcentaje de pacientes en la primera etapa con respecto a la segunda. Esto se debe probablemente a que en

**Figura 4.** Frecuencia de AC en el grupo S, obtenidos en los períodos 2018-2019 y 2020-2021.



la primera etapa se evaluaron sólo ciertos pacientes que tenían más posibilidades de tener la alteración por sus características clínicas, aumentando así la proporción de pacientes positivos. En la segunda etapa, en cambio, y en base a las evidencias demostradas con respecto a su impacto en el pronóstico, las alteraciones del cromosoma 1 fueron incorporadas al estudio de rutina junto a la del17p y a los rearrreglos de IGH, alcanzando a mayor número de pacientes y reduciendo el porcentaje de pacientes positivos.

El presente estudio demuestra que el avance en el desarrollo de los recursos técnicos y la experiencia adquirida en el uso y la interpretación de los mismos son determinantes en los resultados obtenidos.

## Conclusión

Este análisis demuestra que la utilización de la separación celular previa a los estudios por FISH aumenta significativamente la sensibilidad de detección de AC en pacientes con MM. La combinación de ambas técnicas permite realizar una identificación rápida de AC en más del 60% de los casos, dando resultados similares a los descritos en la literatura y logrando así definir grupos de riesgo para la implementación de enfoques de tratamiento individualizados en el manejo de pacientes con mieloma. Por lo tanto, la selección y purificación de células plasmáticas previo al estudio por FISH debería ser realizada de rutina como parte de la caracterización de los pacientes con MM.

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

## Bibliografía

1. Rajan AM, Rajkumar SV. Interpretation of cytogenetic results in multiple myeloma for clinical practice. *Blood Cancer J.* 2015 Oct 30;5(10):e365.
2. Thakurta A, Ortiz M, Bleuca P et al. High subclonal fraction of 17p deletion is associated with poor prognosis in multiple myeloma. *Blood.* 2019 Mar 14;133(11):1217-1221.
3. Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2020 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol.* 2020 May;95(5):548-567.
4. Ross FM, Avet-Loiseau H et al. Report from the European Myeloma Network on interphase FISH in multiple myeloma and related disorders. *Haematologica.* 2012 Aug;97(8):1272-7.
5. Walker BA, Mavrommatis K, Wardell CP et al. A high-risk, Double-Hit, group of newly diagnosed myeloma identified by genomic analysis. *Leukemia.* 2019;33:159-170.
6. Greipp PR, San Miguel J et al. International staging system for multiple myeloma. *J Clin Oncol.* 2005 May 20;23(15):3412-20. Erratum in: *J Clin Oncol.* 2005 Sep 1;23(25):6281.
7. Palumbo A, Avet-Loiseau H et al. Revised International Staging System for Multiple Myeloma: A Report From International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol.* 2015 Sep 10;33(26):2863-9.
8. Perrot A, Avet-Loiseau H, Corre J et al. Development and Validation of a Cytogenetic Prognostic Index Predicting Survival in Multiple Myeloma. *J Clin Oncol.* 2019;37(19):1657-1665.
9. Rajkumar SV, Miguel JF et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014 Nov;15(12):e538-48.



**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.



ARTÍCULO  
ORIGINAL

HEMATOLOGÍA  
Volumen 26 n° 2: 36-45  
Mayo - Agosto 2022

# Primera experiencia sobre efectividad y seguridad de lenalidomida-bortezomib-dexametasona (RVd) como tratamiento de inducción en pacientes con diagnóstico reciente de mieloma múltiple (MM) candidatos a trasplante hematopoyético en Argentina. Estudio colaborativo del Grupo Argentino de Mieloma Múltiple (GAMM).

First experience on the effectiveness and safety of lenalidomide-bortezomib-dexamethasone (RVd) as induction treatment in patients with recent diagnosis of multiple myeloma (MM) who are candidates for hematopoietic transplant in Argentina. Collaborative study of the Argentine Group of Multiple Myeloma (GAMM)

Duarte P<sup>1</sup>, Schutz N<sup>2</sup>, Remaggi G<sup>3</sup>, Ochoa P<sup>4</sup>, Seehaus C<sup>2</sup>, Caeiro G<sup>5</sup>, Corzo A<sup>6</sup>, Funes ME<sup>7</sup>, Garate G<sup>8</sup>, Aizpurúa F<sup>8</sup>, Yantorno S<sup>9</sup>, Giannini ME<sup>10</sup>, Cruset S<sup>11</sup>, García-Altuve J<sup>1</sup>, Paoletti M<sup>12</sup>, Quiroga L<sup>13</sup>, Fantl D<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Hospital Universitario CEMIC, CABA.

<sup>2</sup> Hospital Italiano de Buenos Aires.

<sup>3</sup> Fundaleu, CABA.

<sup>4</sup> Instituto Alexander Fleming, CABA.

<sup>5</sup> Hospital Privado Universitario, Córdoba.

<sup>6</sup> Hospital de Clínicas, CABA.

<sup>7</sup> Sanatorio Británico, Rosario.

<sup>8</sup> Hospital Alemán, CABA.

<sup>9</sup> Hospital Italiano de La Plata.

<sup>10</sup> Hospital Central de Mendoza, Mendoza.

<sup>11</sup> Hospital El Cruce, Florencio Varela.

<sup>12</sup> Clínica 25 de Mayo de Mar del Plata.

<sup>13</sup> Hospital Churrucá-Visca, CABA.

pjduartemd@gmail.com

Fecha recepción: 16/7/2022

Fecha aprobación: 16/8/2022

**Palabras claves:** bortezomib, lenalidomida, mieloma múltiple, tratamiento de inducción.

**Keywords:** bortezomib, multiple myeloma, lenalidomide, induction treatment.

## Resumen

**Introducción:** el objetivo de tratamiento de primera línea en los pacientes con MM candidatos a trasplante hematopoyético autólogo (TCPH) es lograr la mayor profundidad de respuesta posible, lo que ha permitido prolongar las sobrevidas en este grupo de pacientes (pts). Se disponen de diferentes esquemas de inducción previos al TCPH. Actualmente, el esquema RVd es una de las primeras opciones recomendadas por diferentes guías de tratamiento. No existen datos publicados sobre la eficacia y seguridad sobre RVd como esquema de inducción en Latinoamérica en estudios de evidencia de vida real.

**Objetivos:** nuestro objetivo primario fue describir la eficacia de RVd como inducción previo al TCPH. Además se evaluaron toxicidades relacionadas al tratamiento, sobrevida libre de progresión (SLP) y sobrevida global (SG).

**Material y métodos:** estudio retrospectivo, multicéntrico de 13 centros pertenecientes al GAMM. Se incluyeron pts adultos con MM de reciente diagnóstico candidatos a TCPH tratados con RVd entre abril de 2016 a abril de 2021. Se analizaron las tasas de respuestas según los criterios IMWG-2016 y las toxicidades de acuerdo al CTCAE V4.3.

**Resultados:** se incluyeron 110 pts con una mediana de edad de 58 años (rango 29-71) con 50% de sujetos femeninos y una mediana de seguimiento de 17 meses. 29 pts (27%) presentaron R-ISS 3, 21 pts (19%) alto riesgo citogenético y 11 pts (10%) enfermedad extramedular. La mediana de número de ciclos de RVd recibidos fue 6 (rango 2-10). 15 pts (14%) requirieron plerixafor previo a la recolección de células madres y 14 pts (13%) fallaron a la movilización inicial. La mediana de células CD34+ por kg fue de  $4.6 \times 10^6$  (RIC 3.21-6.14). Las tasas de respuesta previa al TCPH fueron: 97% de respuesta global (RG), 77% muy buena respuesta parcial (MBRP) o mayor y 40% de respuesta completa (RC). La tasa de RC fue similar entre los pacientes de alto riesgo citogenético vs. riesgo estándar (p:0,39). Las tasas de respuesta post TCPH fueron: 99% RG, 93% MBRP o mayor y 75% de RC. Los eventos adversos de cualquier grado más frecuentes fueron: hematológicos (42%), infecciosos (39%), gastrointestinales (29%) y neuropatía periférica (23%). La SLP a 24 meses fue del 88% para toda la cohorte (IC95% 75-94). En aquellos pts que alcanzaron RC previa al TCPH, la SLP a 24 meses

fue del 100% vs 80% en el resto (p: 0.005). La SG a 24 meses es de 95% (IC95% 87-98).

**Conclusiones:** en nuestra cohorte fuera de un ensayo clínico, RVd resultó ser un esquema eficaz con perfil de seguridad adecuado. El TCPH profundizó aún más las tasas de respuesta. Ésta es la primera experiencia sobre el uso de RVd como inducción previa al TCPH en Latinoamérica.

## Abstract

**Introduction:** the objective of first-line treatment in patients with MM who are candidates for autologous hematopoietic transplantation (HSCT) is to achieve the greatest possible depth of response, which has prolonged survival in this group of patients (pts). Different induction schemes are available prior to HSCT. Currently, the RVd scheme one of the best recommended options according to different treatment guidelines. There are no published data on the efficacy and safety of RVd as an induction regimen in Latin America in real word evidence studies.

**Objectives:** our primary objective was to describe the efficacy of RVd as induction prior to HSCT. In addition, treatment-related toxicities, progression-free survival (PFS), and overall survival (OS) were evaluated.

**Material and methods:** retrospective, multicenter study of 13 centers belonging to the GAMM. Adult pts with newly diagnosed MM candidates for HSCT treated with RVd between April 2016 and April 2021 were included. Response rates were analyzed according to IMWG-2016 criteria and toxicities according to CTCAE V4.3.

**Results:** 110 pts with a median age of 58 years (range 29-71) with 50% female subjects and a median follow-up of 17 months were included. 29 pts (27%) presented R-ISS 3, 21 pts (19%) high cytogenetic risk and 11 pts (10%) extramedullary disease. The median number of RVd cycles received was 6 (range 2-10). 15 pts (14%) required plerixafor prior to stem cell collection and 14 pts (13%) failed initial mobilization. The median number of CD34+ cells per kg was  $4.6 \times 10^6$  (IQR 3.21-6.14). Response rates prior to HSCT were: 97% overall response rate (ORR), 77% very good partial response (VGPR) or greater and 40% complete response (CR). The CR rate was similar between patients with high cytogenetic risk vs. standard risk (p:0.39). Post-HSCT response rates were: 99% ORR, 93% VGPR or greater and 75% CR.

The most frequent adverse events of any grade were: hematological (42%), infectious (39%), gastrointestinal (29%) and peripheral neuropathy (23%). The PFS at 24 months was 88% for the entire cohort (95% CI 75-94). In those pts who achieved CR prior to HSCT, the PFS at 24 months was 100% vs 80% in the rest (p: 0.005). The OS at 24 months is 95% (95% CI 87-98).

**Conclusions:** in our cohort outside of a clinical trial, RVd turned out to be an effective regimen with an adequate safety profile. The HSCT further deepened response rates. This is the first experience of the use of RVd as induction prior to HSCT in Latin America.

### Introducción

El manejo del paciente con mieloma múltiple de reciente diagnóstico (MMRD) ha cambiado significativamente en los últimos 15 años con la incorporación de nuevos agentes terapéuticos como las drogas inmunomoduladoras (IMiDs), los inhibidores del proteosoma (IP) y, más recientemente, los anticuerpos monoclonales (AtcMo)<sup>(1)</sup>. Debido a ello, la secuencia de tratamiento óptima para los pacientes con MMRD se encuentra en continua evolución con el objetivo de profundizar las respuestas terapéuticas y prolongar las sobrevividas<sup>(2)</sup>.

Sin embargo, el mieloma múltiple continúa siendo una enfermedad incurable en la mayoría de los pacientes, principalmente en el subgrupo de pacientes de alto riesgo definidos genéticamente<sup>(3-4)</sup>. Actualmente, el esquema de inducción lenalidomida-bortezomib-dexametasona (RVd) es la primera opción recomendada para los pacientes con MMRD candidatos a trasplante hematopoyético autólogo (TCPH) por diferentes guías de tratamiento debido a las altas tasas de respuestas globales y completas<sup>(5-7)</sup>.

Los estudios PETHEMA GEM2012<sup>(8)</sup>, IFM2009<sup>(9)</sup> y DETERMINATION<sup>(10)</sup> demostraron que RVd constituye una opción eficaz, de perfil de seguridad adecuado y que no compromete de manera significativa la colecta de células madres hematopoyéticas.

No se disponen de datos locales respecto a la eficacia y seguridad del esquema RVd como tratamiento de inducción previo al TCPH. Decidimos en esta experiencia multicéntrica argentina evaluar la eficacia y seguridad de RVd previo al TCPH fuera de un ensayo clínico.

### Material y métodos

Estudio de cohorte retrospectiva multicéntrico con participación de 13 centros pertenecientes al Grupo Argentino de Mieloma Múltiple (GAMM). Se incluyeron pacientes adultos mayores de 18 años con MMDR candidatos a autotrasplante hematopoyético con enfermedad sintomática y medible. Se excluyeron pacientes con seguimiento menor a 6 meses desde el inicio del tratamiento, mieloma múltiple previamente tratado, amiloidosis y leucemia de células plasmáticas.

Los pacientes recibieron el esquema de inducción RVd según práctica de cada institución participante en ciclos de 28 días. Se analizaron los datos durante el período de abril 2016 a abril 2021. El protocolo fue aprobado por los Comités de Revisión de cada institución participante.

Se diseñó un formulario estandarizado de captura de datos y se volcaron los datos de las historias clínicas de estos pacientes a una base de datos electrónica unificada. Los datos demográficos y clínicos analizados al diagnóstico incluyeron edad, género, proteinograma electroforético sérico y en orina, inmunofijación sérica y en orina, subtipo de inmunoglobulina comprometida, hemograma, creatinina, calcemia, LDH, dosaje de inmunoglobulinas, dosaje de cadenas livianas séricas libres y evaluación de lesiones óseas por mieloma según práctica de cada institución. Cuando se encontraban disponibles, resultados de estudios citogenéticos y de estudios por FISH fueron incluidos para su evaluación. Se utilizó la escala de puntuación internacional R-ISS<sup>(11)</sup> (*Revised International Staging System*) para la clasificación de riesgo.

El objetivo primario fue describir las tasas de respuesta con RVd como inducción previa al TCPH. Como objetivos secundarios, se evaluaron toxicidades relacionadas al tratamiento, sobrevida libre de progresión (SLP) y sobrevida global (SG).

La respuesta se evaluó de acuerdo con los criterios uniformes de la IMWG (*International Myeloma Working Group*) 2016<sup>(12)</sup>. La respuesta global (RG) se definió como respuesta parcial (RP) o mejor. Se realizó biopsia de médula ósea con citometría de flujo e inmunohistoquímica CD138 en pacientes con pico M negativo e inmunofijación negativa para confirmar remisión completa (RC). Los eventos adversos se clasificaron según la escala CTCAE (*Common Terminology Criteria for Adverse Events*) Versión

4.3<sup>(13)</sup>. La citogenética de alto riesgo se definió como la presencia de cualquiera de los siguientes factores de riesgo: cariotipo complejo (más de 2 alteraciones citogenéticas), del(17p), t(4;14), t(14;16) y ganancias del cromosoma 1q por estudio de FISH.

La evaluación de respuesta se realizó cada dos ciclos de tratamiento. Las tasas de RG, RP o mejor y RC se informaron con la mejor respuesta post-inducción y a los 100 días ( $\pm 30$  días) después del TCPH. De acuerdo con los criterios del IMWG 2016<sup>(12)</sup>, la SLP se definió como el tiempo desde la fecha de inicio de la terapia de inducción (primera dosis de quimioterapia) hasta progresión o muerte por cualquier causa. La SG se definió como el tiempo desde la fecha de inicio de la terapia de inducción hasta la muerte por cualquier causa.

La enfermedad residual medible (ERM) se evaluó al final de la inducción y en el día 100 ( $\pm 30$ ) después del trasplante autólogo de médula ósea en pacientes que lograron al menos RC. La ERM se evaluó mediante citometría de flujo de próxima generación en aspirados de médula ósea utilizando el procedimiento estándar operativo EuroFlow para la detección de ERM en MM con una sensibilidad mínima de 1 en  $10^5$  células nucleadas, según lo recomendado por los criterios del IMWG 2016<sup>(12)</sup>.

Se utilizó estadística descriptiva básica informando las medidas de resumen como media y desvío estándar o mediana y rango. Se utilizó test de  $\chi^2$  y ANOVA para comparación de 2 o más poblaciones. Se determinó la sobrevida de los pacientes utilizando curvas de Kaplan Meier y log Rank. Se utilizó para este análisis el programa estadístico STATA 14.

## Resultados

Participaron en el estudio 13 centros de la República Argentina con un total de 110 pacientes incluidos en el estudio. La mediana de edad fue de 58 años (rango 29-71) con 50% de sujetos femeninos. 29 pacientes (27%) presentaron R-ISS 3, 21 pacientes (19%) alto riesgo citogenético y 11 pacientes (10%) enfermedad extramedular. La mediana de seguimiento para nuestra cohorte fue de 17 meses (rango 7-52). Las características de la población del estudio se encuentran detalladas en la Tabla 1.

La mediana de ciclos de inducción con RVD administrados fue de 6 (rango 2-10). La dosis de lenalidomida fue de 25 mg diarios por 21 días cada ciclo, en el 96% (106) de los pacientes. El bortezomib fue

administrado en forma subcutánea y semanal en todos los pacientes a una dosis de 1,3 mg/m<sup>2</sup> en el 55% (61) de los pacientes. Al momento del análisis 74% (81) de los pacientes habían recibido TCPH y el 70% (77) de los pacientes se encontraban en fase de mantenimiento. En nuestra cohorte 18% (20) de los pacientes recibieron tratamiento de consolidación post TCPH, 17 pacientes RVD y 3 pacientes TCPH en tándem. El detalle de los tratamientos recibidos se describe en la Tabla 2.

En relación a las tasas de respuesta al tratamiento de inducción previo al TCPH, el porcentaje de pacientes con respuestas parciales o mejores fue de 97%, con un porcentaje de MBRP o mejores del 77% y con un 40% de respuestas completas. La tasa de RC fue similar entre los pacientes de alto riesgo citogenético vs. riesgo estándar ( $p:0,39$ ). Se describen las respuestas post inducción en Tabla 3.

Respecto a la recolección de células madres hematopoyéticas, 14% (15) de los pacientes requirieron agregar plerixafor a la estrategia de movilización y 13% (14) fallaron al primer intento de movilización. La mediana de células CD34+ recolectadas en nuestra cohorte fue de  $4,6 \times 10^6$  /kg (RIC 3,21-6,14). En la Tabla 4, se describe el análisis por intención de tratar de respuestas pre y post trasplante, en todos los pacientes con un seguimiento suficiente de al menos 3 meses postrasplante o al menos de 12 meses desde su diagnóstico en caso de no proceder al mismo por cualquier causa (toxicidad, muerte o decisión del paciente) ( $n: 83$ ). La evaluación de enfermedad residual medible se realizó en una minoría de pacientes, por lo que decidimos excluir la prueba de ERM de nuestro análisis.

Con una mediana de seguimiento de 17 meses, la mediana de sobrevida libre de progresión no ha sido alcanzada aún. La SLP fue de 88% a 2 años (IC95% 75-94) (Figura 1).

La SLP a 2 años en los pacientes que alcanzaron RC o mejor con RVD previo al trasplante fue significativamente mejor vs. aquellos pacientes con respuestas menores pre TCHP (100% vs 80% respectivamente) ( $p 0.005$ ). No se encontró diferencias significativas en la SLP a 2 años entre los pacientes que lograron RC pre TCPH vs. aquellos que la alcanzaron post trasplante. La sobrevida global de toda la cohorte a 2 años fue de 95% (IC95% 87-98), sin alcanzarse la mediana de SG aún.

Los eventos adversos (cualquier grado) más co-

munes fueron: anemia (42%), neutropenia (25%), trombocitopenia (31%), infecciones (39%), alteraciones gastrointestinales (29%) y neuropatía (23%). La mayoría de ellos fueron de grado 1 o 2; las principales toxicidades grado 3 o mayor fueron: infecciones (9%), alteraciones gastrointestinales (4%) y anemia (3%). La Tabla 5 detalla los eventos adversos de nuestra cohorte.

Debieron suspender el tratamiento 11 pacientes (10%) en forma definitiva. La mayoría de las suspensiones fueron por toxicidad relacionada al tratamiento (9 pacientes), luego 1 paciente por progresión de enfermedad y otro por decisión personal.

### Discusión

Este estudio representa la primera experiencia sobre el uso de RVd como tratamiento de inducción pre trasplante hematopoyético en pacientes con MMRD en Argentina. RVd demostró ser un esquema efi-

caz, logrando respuestas completas en el 40% de los pacientes, sin comprometer significativamente la colecta de células madres y con un perfil de seguridad adecuado. Nuestros resultados confirman a RVd como uno de los mejores esquemas de inducción disponible actualmente para el tratamiento de MMRD, acorde con lo sugerido por distintas guías de tratamiento<sup>(5-7)</sup>.

Observamos en nuestra cohorte una tasa de RC superior a la del estudio prospectivo IFM2009<sup>(9)</sup>, pudiendo ser consecuencia al mayor número de ciclos de inducción administrados en nuestro estudio (mediana de 6 ciclos vs. 3 respectivamente).

Si bien no se han publicado comparaciones directas prospectivas entre RVd vs. otros esquemas de inducción como bortezomib-ciclofosfamida-dexametasona (VCd) o bortezomib-talidomida-dexametasona (VTd), estudios recientes retrospectivos o indirectos demostraron un beneficio de RVd por

**Tabla 1.** Características de la población

Variable	N = 110
Edad, mediana (rango) años	58 (29 - 71)
Sexo femenino, n (%)	55 (50%)
Tipo de mieloma múltiple	
• IgG, n (%)	57 (52%)
• No IgG, n (%)	50 (45%)
• Kappa, n (%)	62 (56%)
• Lambda, n (%)	45 (42%)
Criterios CRAB al diagnóstico	
• Anemia, n (%)	56 (51%)
• Lesiones óseas, n (%)	86 (78%)
• Insuficiencia renal, n (%)	16 (15%)
• Hipercalcemia, n (%)	13 (12%)
• Slim CRAB, n (%)*	12 (11%)
Factores pronósticos, n (%)	
• R-ISS 1	36 (33%)
• R-ISS 2	44 (40%)
• R-ISS3	29 (27%)
Enfermedad extramedular, n (%)	11 (10%)
• Extra-ósea ***	4 (4%)
LDH aumentada, n (%)**	30 (27%)
Alto riesgo citogenético, n (%)	21 (19%)
>60% plasmocitos clonales en médula ósea****	52 (47%)

\*Ratio CLLs >100, infiltración de la médula ósea > 60% o lesiones focales en la resonancia magnética nuclear sin CRAB.

\*\* Se considera alto riesgo citogenético la presencia de t(4;14), t(14;16), alteraciones del cromosoma 1 y del(17p). RIC: rango intercuartilo.

\*\*\* Compromiso de partes blandas a partir del hueso (mayoría paravertebrales), extraóseo los verdaderos plasmocitomas extramedulares (SNC, hepático y renal)

**Tabla 2.** Características del tratamiento

Variable	N = 110
Número de ciclos de RVD, mediana (RIC)	6 (2-10)
Dosis de lenalidomida (vía oral), n (%)	
• 25 mg	106 (96%)
• 15 mg	3 (3%)
• <15 mg	1 (1%)
Dosis de bortezomib (subcutáneo), n (%)	
• 1,5 mg/m <sup>2</sup>	49 (44%)
• 1,3 mg/m <sup>2</sup>	61 (55%)
Dosis de dexametasona (vía oral), n (%)	
• 40 mg semanal	101 (92%)
• 20 mg semanal	9 (8%)
Trasplante de médula ósea, n (%)	81 (74%)
Consolidación, n (%)	20 (18%)
• RVD	17 (15%)
• TCPH en tándem	3 (2%)
Mantenimiento, n (%)	77 (70%)
• Lenalidomida	70 (90%)
• Inhibidor proteosoma + lenalidomida	6 (8%)
• Bortezomib	1 (1%)
• Talidomida	1 (1%)

**Tabla 3.** Respuesta al tratamiento de inducción (n:110)

Tasa de RC o mejor, % (IC 95%)	40% (30 - 50)
• RC estricta (RCs), n (%)	22 (20%)
• RC, n (%)	22 (20%)
Tasa de muy buena respuesta parcial (MBRP) o mejor, % (IC 95%)	77% (68 - 85)
• MBRP, n (%)	41 (37%)
Tasa de respuesta global (RG), % (IC 95%)	97% (92 - 99)
• Respuesta parcial (RP), n (%)	22 (20%)
• Respuesta menor (RM), n (%)	1 (1%)
Refractarios primarios, % (IC 95%)	1,8% (0.02 - 6)
• Enfermedad estable (EE), n (%)	0
• Enfermedad progresiva (EP), n (%)	2 (2%)

Se considera respuesta global a la respuesta parcial o mejor. Se considera refractario primario a los pacientes que no alcanzan al menos una respuesta menor al tratamiento.

sobre VCd o VTd en términos de profundidad de respuestas y en SLP, pero sin beneficio significativo en SG<sup>(8,14,15)</sup>.

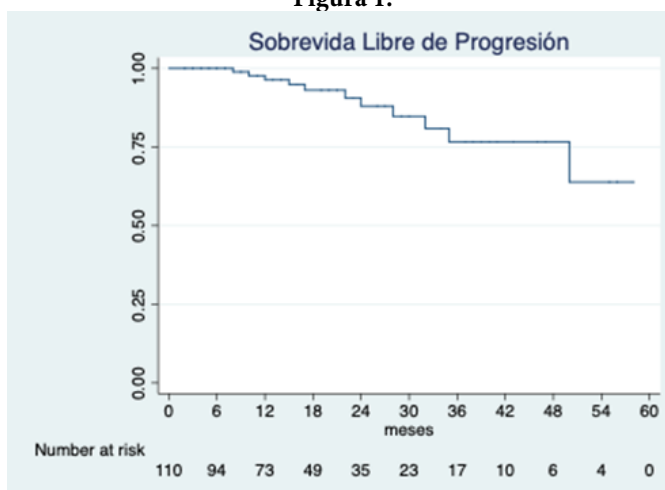
Nuestros resultados también se comparan favorablemente con los de un estudio de nuestro grupo publicado recientemente, que comparó VCd vs. VTd como esquemas de inducción pre TCPH<sup>(16)</sup>. En este estudio las tasas de RC post inducción fueron del 36% para VTd y del 26% para VCd, mientras que

fueron del 40% en nuestra cohorte actual. Considerando la movilización de células madres CD34+, 14% de los pacientes de nuestra cohorte requirieron agregar plerixafor a la estrategia de movilización y 13% fallaron al primer intento de movilización. Estas tasas son algo más elevadas a lo publicado en la literatura para RVD u otros esquemas de inducción<sup>(8,9,16)</sup>. Una explicación a los fallos en movilización podría ser el número elevado de ciclos de inducción reci-

**Tabla 4.** Respuesta pre y postrasplante (Análisis con intención de tratar)\*

	Pre TAMO (N = 83)	Post TAMO (N = 83)	p
RC estricta, n (%)	17 (21%)	48 (58%)	<0.001
RC, n (%)	18 (22%)	12 (14%)	0.226
MBRP, n (%)	35 (42%)	16 (19%)	0.001
RP, n (%)	10 (12%)	5 (6%)	0,175
RM, n (%)	1 (1%)	1 (1%)	ns
EE, n (%)	1 (1%)	1 (1%)	ns
EP, n (%)	1 (1%)	0	ns
Tasa RG, % (IC 95%)	97% (94-100)	97% (94-100)	0,890
Tasa ≥ MBRP, % (IC 95%)	84% (76-92)	91% (85-97)	0.15
Tasa ≥ RC, % (IC 95%)	43% (31-53)	72% (63-82)	0.001

\*Se incluyeron todos los pacientes con un seguimiento adecuado de al menos 12 meses post diagnóstico independientemente de que hayan recibido efectivamente el trasplante o no. En aquellos pacientes que no procedieron al trasplante se consideró la respuesta previa al inicio del mantenimiento en lugar de la respuestas post trasplante.

**Figura 1.**

SLP con una mediana de seguimiento de 17 meses.

dos por nuestra cohorte en comparación con otros estudios.

Los esquemas de inducción previos al trasplante hematopoyético en pacientes con MMRD se encuentran en evolución continua. El estudio FORTE<sup>(17)</sup> evaluó la incorporación del inhibidor de proteosoma de segunda generación carfilzomib a lenalidomida-dexametasona (KRd) como esquema de inducción. El esquema KRd demostró ser significativamente superior a la combinación carfilzomib-ciclofosfamida-dexametasona en términos de tasas de RC, SLP y negativización de ERM. Las tasas de RC post inducción de 4 ciclos fueron 34% para KRd vs. 20% para KCd. La SLP a 4 años fue de 69% vs. 51% a favor de KRd y la negativización de ERM post consolidación fue 58% vs 41% respectivamente.

El estudio CASSIOPEIA<sup>(18)</sup> evaluó la incorporación del anticuerpo monoclonal daratumumab a VTd (D-VTd) como esquema de inducción previo al trasplante. La combinación D-VTd logró una SLP significativamente superior a VTd (93% vs 85% a 18 meses;  $p < 0.0001$ ), lo que motivó su aprobación en la primera línea de tratamiento por diferentes agencias regulatorias. No se dispone en la literatura de una comparación directa entre RVd vs. D-VTd.

La combinación de daratumumab-RVd como esquema de inducción fue evaluada en el estudio fase 2 GRIFFIN<sup>(19)</sup>. La incorporación de daratumumab demostró una mayor tasa de RC vs. el grupo control (RVd): 63,6% vs 47,4% respectivamente ( $p = 0,03$ ), como también mayor tasa de negatividad en ERM (62,5 % vs. 27,2 %, respectivamente  $p < 0,0001$ ). La

**Tabla 5.** Eventos adversos asociados al tratamiento con RVD

	Cualquier grado	Grado 1-2	Grado 3-4
Anemia, n (%)	46 (42%)	43 (39%)	3 (3%)
Neutropenia, n (%)	27 (25%)	26 (24%)	1 (1%)
Plaquetopenia, n (%)	34 (31%)	32 (29%)	2 (2%)
Neuropatía, n (%)	25 (23%)	23 (21%)	2 (2%)
TVP-TEP, n (%)*	10 (9%)	8 (7%)	2 (2%)
Infecciones, n (%)**	43 (39%)	33 (30%)	10 (9%)
Gastrointestinal, n (%)***	32 (29%)	28 (25%)	4 (4%)
Cardiovascular, n (%)****	8 (7%)	8 (7%)	0
Otros:			
• Erupción	8 (7%)	7 (6%)	1 (1%)
• Hepatitis	3 (3%)	2 (2%)	1 (1%)
• COVID-19	3 (3%)	1 (1%)	2 (2%)
• Neurológicas*****	3 (3%)	2 (2%)	1 (1%)

\*91% profilaxis con aspirina, 2% no profilaxis y el resto DOACS, heparina o acenocumarol.\*\* Mayoritariamente infecciones respiratorias.\*\*\* Mayoritariamente diarrea.\*\*\*\* Edema, disnea, arritmias (FA).\*\*\*\*\* ACV, convulsiones, insomnio.

tasa de SLP a 24 meses fue superior para D-DRd (95,8% vs 89,8%), sin diferencias para SG por el momento. Se aguardan los resultados del estudio fase 3 PERSEUS<sup>(20)</sup>, que se encuentra en curso.

Otras combinaciones de cuatro drogas, prometen ser esquemas de inducción de alta eficacia como por ejemplo: D- KRd<sup>(21)</sup>, isatuximab-VRd<sup>(22)</sup>, isatuximab-KRd<sup>(23)</sup> y elotuzumab-VRd<sup>(24)</sup>.

En nuestro estudio la SLP y la SG medianas no han sido alcanzadas aún. Con una mediana de seguimiento de 17 meses, la SLP estimada a 2 años es de 88% y la SG estimada a 2 años del 95%. Estos resultados son similares a lo comunicado en otros estudios con RVD como esquema de inducción<sup>(8-10,14,15)</sup>. No encontramos diferencias significativas en las tasas de respuesta o tasas de sobrevida entre los diferentes grupos de riesgo según escala R-ISS o grupos de riesgo genético (datos no mostrados). Una explicación de este hallazgo podría ser el escaso número de pacientes de nuestra cohorte.

Los eventos adversos relacionados al tratamiento más frecuentes fueron los hematológicos (anemia, neutropenia y trombocitopenia), en su mayoría grados 1-2. Los eventos adversos hematológicos grado 3 o mayor no motivaron la suspensión del tratamiento. La toxicidad hematológica de RVD en nuestro estudio fue similar a la comunicado en la literatura<sup>(8-10)</sup>.

Con respecto a toxicidades no hematológicas de

cualquier grado, las infecciones, la toxicidad gastrointestinal y la neuropatía fueron las más frecuentes, que ocurrieron en el 39%, 29% y 23% de los pacientes respectivamente. Las toxicidades no hematológicas motivaron la suspensión del tratamiento en 9 pacientes (8%). Si bien las tasas de toxicidades no hematológicas son similares a las encontradas en otros estudios de RVD como esquema de inducción, en nuestra cohorte una mayor proporción de pacientes debió suspender el tratamiento por las mismas<sup>(8-10)</sup>. Posiblemente, también esto último se encuentre relacionado al número mayor de ciclos de inducción en nuestro estudio respecto a otras publicaciones.

Nuestro análisis presenta varias limitaciones por la naturaleza retrospectiva y observacional del estudio, lo que evita minimizar sesgos de selección. El esquema RVD fue utilizado según la práctica habitual de cada centro y no formando parte de un esquema protocolizado. Además, no fue posible evaluar el impacto de la negativización de la ERM con el esquema RVD, debido a que excluimos dicho análisis por el escaso número de pacientes en RC con evaluación adecuada de EMR. Finalmente, respecto a los estudios genéticos, las pruebas de FISH no se realizaron en la mayoría de los pacientes utilizando técnicas de enriquecimiento de células plasmáticas (células no seleccionadas), por lo que se desconoce el impacto real de la citogenética de alto riesgo en nuestra cohorte.

Sin embargo, consideramos importante la divulgación de estos datos por tratarse de la primera experiencia local sobre el uso de RVd como esquema de inducción previo al trasplante hematopoyético.

Concluimos que el esquema RVd sería, por el momento, una de las opciones terapéuticas más eficaces disponible en nuestro medio para los pacientes con MMRD con un perfil de seguridad aceptable.

**Conflictos de interés:** Duarte P declara haber recibido honorarios de parte de Janssen, BMS, Sanofi y Takeda por concepto de conferencias, consultorías y actividades educativas en las que ha participado. Giannini ME declara haber recibido honorarios por parte de Janssen y Takeda por concepto de conferencias y actividades educativas. Remaggi G declara haber recibido honorarios por parte de Janssen, Teva y Sanofi por concepto de conferencias, actividades educativas y consultorías en las que ha participado. García-Altuve J declara haber recibido honorarios por parte de Janssen, Takeda y Sanofi por concepto de conferencias y actividades educativas en las que ha participado. Seehaus C declara haber recibido honorarios por parte de Amgen, Takeda, Novartis, Sanofi y Janssen por concepto de conferencias y actividades educativas en las que ha participado. Fantl D declara haber recibido honorarios por parte de Janssen, Takeda, Biotoscana, BMS y Sanofi por concepto de conferencias y actividades educativas en las que ha participado. Yantorno S declara haber recibido honorarios por parte de Janssen y Takeda por concepto de conferencias y por parte de Janssen por una actividad educativa la que ha participado. Schutz N declara haber recibido honorarios por parte de Janssen, Sanofi, Amgen, Takeda y Pfizer por concepto de conferencias, actividades educativas y de investigación en las que ha participado. Paola Ochoa declara haber recibido honorarios por parte de Takeda, Janssen, Biotostana, Amgen y Sanofi por concepto de conferencias y actividades educativas y por parte de Sanofi y Janssen por concepto de consultorías.

### Bibliografía

1. Usmani SZ, Hoering A, Cavo M et al. Clinical predictors of long-term survival in newly diagnosed transplant eligible multiple myeloma - an IMWG research project. *Blood Cancer J*. 2018;8(12):123.
2. Perrot A. How I treat frontline transplantation-eligible multiple myeloma. *Blood*. 2022; 139(19):2882-2888.
3. Costa L, Usmani S. Defining and managing High risk Multiple Myeloma. Current concepts. *J Natl Compr Canc Netw*. 2020; 18(12):1726-1730.
4. Davies F, Pawlyn Ch, Usmani S et al. Perspectives on the risk stratified treatment of multiple myeloma. *Blood Cancer Discov*. 2022; 3:1-12.
5. Mikhael J, Ismaila N, Cheung M et al. Treatment of multiple myeloma: ASCO and CCO Joint Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol*. 2019; 37 (14):1228-1263.
6. Dimopoulos MA, Moreau P, Terpos E et al. Multiple Myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow up. *Ann Oncol*. 2021; 32 (39):309-322.
7. Callender NS, Baljevic M, Adekola K et al. NCCN Guidelines Insights: Multiple Myeloma, Version 3.2022. *J Natl Compr Canc Netw*. 2022; 20(1):8-19.
8. Rosiñol L, Oriol A, Rios R, Sureda A, Blanchard MJ, Hernández MT et al. Bortezomib, lenalidomide, and dexamethasone as induction therapy prior to autologous transplant in multiple myeloma. *Blood*. 2019;134 (16):1337-45.
9. Perrot A, Lauwers-Cances V, Cazaubiel T, Facon T, Caillot D, Clement-Filliatre L, et al. Early versus late autologous stem cell transplant in newly diagnosed multiple myeloma: long-term follow-up analysis of the IFM 2009 trial. *Blood* 2020; 136:39.
10. Richardson PG, Jacobus SJ, Weller EA et al. Triplet Therapy, Transplantation, and Maintenance until Progression in Myeloma. *N Engl J Med*. 2022 Jun 5. doi: 10.1056/NEJMoa2204925.
11. Multiple Myeloma: A Report From International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol*. 2015; 33:2863-2869.

12. Kumar S, Paiva B, Anderson KC et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2016;17(8):328-346.
13. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 4.0 Published: May 28, 2009 (v4.03: June 14, 2010). [https://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE\\_4.03/CTCAE\\_4.03\\_2010-06-14\\_QuickReference\\_8.5x11.pdf](https://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE_4.03/CTCAE_4.03_2010-06-14_QuickReference_8.5x11.pdf)
14. Sidana S, Kumar S, Fraser R et al. Impact of Induction Therapy with VRD versus VCD on Outcomes in Patients with Multiple Myeloma in Partial Response or Better Undergoing Upfront Autologous Stem Cell Transplantation. *Transplant Cell Ther.* 2022 (28): 83.e1-83.e9.
15. Afrough A, Pasvolsky O, Ma J et al. Impact of Induction With VCD Versus VRD on the Outcome of Patients With Multiple Myeloma After an Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Transplant Cell Ther.* 2022 Jun;28(6):307.e1-307.e8.
16. Schutz N, Ochoa P, Duarte P et al. Real world outcomes with Bortezomib Thalidomide dexamethasone and Cyclophosphamide Bortezomib dexamethasone induction treatment for transplant eligible multiple myeloma patients in a Latin American country. A Retrospective Cohort Study from Grupo Argentino de Mieloma Múltiple. *Hematol Oncol.* 2020; 38(3):363-371.
17. Gay F, Musto P, Rota-Scalabrini D, Bertamini L et al. Carfilzomib with cyclophosphamide and dexamethasone or lenalidomide and dexamethasone plus autologous transplantation or carfilzomib plus lenalidomide and dexamethasone, followed by maintenance with carfilzomib plus lenalidomide or lenalidomide alone for patients with newly diagnosed multiple myeloma (FORTE): a randomised, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2021;22:1705-1720.
18. Moreau P, Attal M, Hulin C et al. Bortezomib, thalidomide, and dexamethasone with or without daratumumab before and after autologous stem-cell transplantation for newly diagnosed multiple myeloma (CASSIOPEIA): a randomized, open-label, phase 3 study. *Lancet.* 2019;394(10192):29-38.
19. Voorhees PM, Kaufman JL, Laubach J et al. Daratumumab, lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone for transplant-eligible newly diagnosed multiple myeloma: the GRIFFIN trial. *Blood.* 2020;136(8):936-945.
20. Sonneveld P, Broijl A, Gay F et al. Bortezomib, lenalidomide, and dexamethasone (VRd) ± daratumumab in patients with transplant-eligible newly diagnosed multiple myeloma: a multicenter, randomized, phase III study (PERSEUS). *J Clin Oncol.* 2019;37: TPS8055-TPS.
21. Landgren O, Hultcrantz M, Diamond B et al. Safety and effectiveness of weekly carfilzomib, lenalidomide, dexamethasone, and daratumumab combination therapy for patients with newly diagnosed multiple myeloma: the MANHATTAN nonrandomized clinical trial. *JAMA Oncol.* 2021;7(6):862-868.
22. Goldschmidt H, Mai EK, Nievergall E et al. Addition of isatuximab to lenalidomide, bortezomib and dexamethasone as induction therapy for newly-diagnosed, transplant-eligible multiple myeloma patients: the phase III GMMG-HD7 trial. *Blood.* 2021; 138:463.
23. Leyppoldt LB, Besemer B, Asemisen AM et al. Isatuximab, carfilzomib, lenalidomide, and dexamethasone (Isa-KRd) in front-line treatment of high-risk multiple myeloma: interim analysis of the GMMG CONCEPT trial. *Leukemia.* 2022; 36(3):885-888.
24. Goldschmidt H, Mai EK, Bertsch U et al. Elotuzumab in combination with lenalidomide, bortezomib, dexamethasone and autologous transplantation for newly-diagnosed multiple myeloma: results from the randomized phase III GMMG-HD6 trial. *Blood.* 2021;138:486.



**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.

# Impacto del Índice Neutrófilo/Linfocito en el pronóstico de los pacientes con linfoma difuso de células grandes B tratados con R-CHOP como primera línea

Impact of the Neutrophil/Lymphocyte Index on the prognosis of patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP as a first line

Baltazar S; Sotomayor G; Ríos M; Nava W; Ávila G; Garza D.

*Departamento de Hematología, Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Especialidades No. 25, Instituto Mexicano del Seguro Social, Monterrey, Nuevo León, México.*

Fecha recepción: 24/12/2020  
Fecha aprobación: 16/8/2022



ARTÍCULO ORIGINAL

HEMATOLOGÍA  
Volumen 26 n° 2: 46-52  
Mayo - Agosto 2022

**Palabras claves:** Índice Neutrófilo/Linfocito, linfoma difuso de células grandes B, linfoma no Hodgkin.

**Keywords:** Neutrophil/Lymphocyte Index, diffuse large B-cell lymphoma, non-Hodgkin's lymphoma.

## Resumen

**Introducción.** El Índice Neutrófilo/Linfocito puede ser un factor pronóstico en los pacientes con linfoma difuso de células grandes B. **Material y métodos.** Estudio observacional, retrospectivo, transversal y analítico. Se incluyeron 83 pacientes con linfoma difuso de células grandes B, diagnosticados entre enero 2014 y diciembre 2018. El análisis descriptivo se hizo con frecuencias absolutas, porcentajes y medidas de tendencia central. Las variables cualitativas se analizaron con la prueba de chi cuadrada y las variables cuantitativas con la prueba T de Student. Para evaluar asociación, se midió el riesgo relativo

con intervalo de confianza al 95%, siendo significativo un valor de  $p < 0.05\%$ . Se realizó un análisis de sobrevida con curvas de Kaplan-Meier. **Resultados.** De 83 pacientes, 51 (61.4%) fueron hombres y 32 (38.5%) mujeres, con una mediana de edad de 61 (26-85) años y una mediana de seguimiento de 27 (0.9-73.2) meses. Sólo 11 pacientes (27.5%) con  $INL \geq 3$  alcanzaron respuesta completa. La sobrevida global a 6 años en el grupo de pacientes con  $INL \geq 3$  fue de 36%. **Conclusiones.** El Índice Neutrófilo/Linfocito elevado al diagnóstico se asocia a peor respuesta al tratamiento de primera línea con R-CHOP y a menor sobrevida global.

## Abstract

**Introduction.** The Neutrophil/Lymphocyte Index may be a prognostic factor in patients with diffuse large B-cell lymphoma. **Material and methods.** Observational, retrospective, cross-sectional and analytical study. Eighty-three patients with diffuse large B-cell lymphoma, diagnosed between January 2014 and December 2018, were included. The descriptive analysis was done with absolute frequencies, percentages and measures of central tendency. The qualitative variables were analyzed with the chi-square test and the quantitative variables with the Student's T test. To evaluate association, the relative risk was measured with a 95% CI, with a p value <0.05% being significant. A survival analysis was performed with Kaplan-Meier curves. **Results.** Of 83 patients, 51 (61.4%) were men and 32 (38.5%) were women, with a median age of 61 (26-85) years and a median follow-up of 27 (0.9-73.2) months. Only 11 patients (27.5%) with INL  $\geq 3$  achieved a complete response. Overall 6-year survival in this group was 36%. **Conclusions.** The elevated Neutrophil / Lymphocyte Index at diagnosis is associated with a worse response to first-line treatment with R-CHOP and a lower overall survival.

## Introducción

A finales del siglo XIX se utilizó el término “linfoma” para diferenciar a los linfomas de las leucemias<sup>(1)</sup>. Actualmente se definen como neoplasias malignas de células linfoides que se originan en los ganglios linfáticos, pero pueden afectar a cualquier órgano del cuerpo<sup>(2)</sup>. El linfoma difuso de células grandes B (LDCGB), representa aproximadamente el 40% de todos los casos de linfoma no Hodgkin<sup>(3)</sup> y se estima que su incidencia en EEUU se incrementará de 29,108 en 2020 hasta aproximadamente 32,443 en el 2025<sup>(3-5)</sup>. El pronóstico lo definen factores del paciente y factores del tumor. El Índice Pronóstico Internacional (IPI) es el modelo de predicción de supervivencia de los pacientes con LDCGB<sup>(6)</sup> incluso existiendo la versión revisada, R-IPI<sup>(7)</sup>. El esquema R-CHOP -con respuesta completa (RC) de 76%, supervivencia global (SG) a 24 meses de 70% y SG a 5 años de 58%<sup>(8,9)</sup>- es el tratamiento de primera línea<sup>(10,11)</sup>. La respuesta al tratamiento se evalúa de acuerdo con los criterios de Lugano<sup>(12)</sup>.

La vigilancia inmunitaria es la destrucción de las células tumorales por el sistema inmunitario<sup>(13)</sup>. La

respuesta inflamatoria asociada al cáncer es un mecanismo propuesto para explicar el escape de la célula tumoral al sistema inmunitario<sup>(14)</sup>. La Escala Pronóstica de Glasgow modificada, el Índice Plaqueta/Linfocito, el Índice Pronóstico, el Índice Pronóstico Nutricional y el Índice Neutrófilo/Linfocito (INL) pueden considerarse reflejo de esta respuesta inflamatoria y correlacionarse con el pronóstico adverso al diagnóstico de diversas neoplasias<sup>(15-20)</sup>.

Porrata y colaboradores evaluaron a 255 pacientes con LDCGB tratados con R-CHOP, encontrando que aquellos con INL <3.5 al diagnóstico presentaban mayor SG comparados con aquellos con INL  $\geq 3.5$ <sup>(18)</sup>. Otros autores como Troppan<sup>(21)</sup>, Ho<sup>(22)</sup>, Keam<sup>(23)</sup> y Wang<sup>(24)</sup> han encontrado una asociación significativa e independiente entre el INL al diagnóstico y el pronóstico pobre en LDCGB. Diferentes puntos de corte han sido publicados, el más alto es 6.0<sup>(25)</sup> y el más bajo es 2.32<sup>(26)</sup>. La falta de estandarización del corte del INL puede explicar el fallo de algunos estudios para demostrar su valor pronóstico<sup>(27)</sup>.

Comparado con otras escalas, el INL se obtiene con parámetros de laboratorio fácilmente disponibles desde la primera evaluación del paciente<sup>(28)</sup>. Actualmente se considera al INL como un factor pronóstico independiente que complementa la información otorgada por el NCCN-IPI<sup>(29)</sup> y el IPI<sup>(30)</sup> en los pacientes con LDCGB. El objetivo primario de este trabajo fue establecer la asociación entre el Índice Neutrófilo/Linfocito y el pronóstico de los pacientes con linfoma difuso de células grandes B de un hospital de tercer nivel en el noreste de México.

## Material y métodos

Se realizó un estudio observacional, retrospectivo, transversal y analítico, en el Departamento de Hematología de un hospital de tercer nivel del noreste de México. Se incluyeron para el estudio pacientes con diagnóstico histopatológico de linfoma difuso de células grandes B, realizado entre enero del 2014 y diciembre del 2018 y que recibieron tratamiento de primera línea con esquema R-CHOP. Se excluyeron pacientes con edad menor de 18 años, expediente clínico incompleto, diagnóstico de enfermedades autoinmunes, infección por VIH o cualquier infección activa al momento del diagnóstico.

Para el análisis descriptivo de los resultados se utilizaron frecuencias absolutas, porcentajes, y medidas de tendencia central. Para el análisis inferencial,

en el caso de variables cualitativas, se utilizó la prueba de chi cuadrada y en el caso de variables cuantitativas se utilizó la prueba T de Student para muestras independientes. Para evaluar la magnitud de la asociación se analizó el riesgo relativo con su intervalo de confianza al 95%. Se consideró como significativo un valor de  $p < 0.05\%$ . Se realizó además un análisis de supervivencia con curvas de Kaplan-Meier.

Este estudio se realizó considerando los aspectos éticos de la declaración de Helsinki (última modificación por la 64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2013) y se aprobó por el Comité de Ética en Investigación 19018 sin requerir el uso de consentimiento informado por ser un estudio retrospectivo.

## Resultados

Entre enero del 2014 y diciembre del 2018 se diagnosticaron 214 pacientes con LDCGB. Se excluyeron 58 pacientes por recibir tratamiento de primera línea diferente a R-CHOP y 60 por expediente clínico incompleto. Del análisis final se excluyeron 10 pacientes por infección por VIH, 2 por enfermedad reumatológica y un paciente que suspendió quimioterapia por infección por *Mycobacterium tuberculosis* (Figura 1).

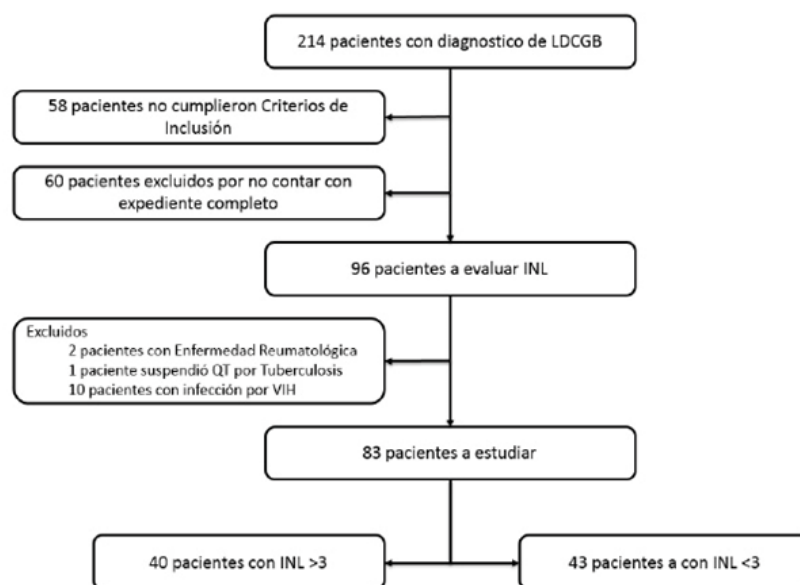
Se incluyeron 83 pacientes, 51 (61.4%) hombres y 32 (38.5%) mujeres, con una mediana de edad de 61 años (26-85), y una mediana de seguimiento de 27 meses (0.9-73.2). Se establecieron dos grupos, uno con un INL  $\geq 3$  (40 pacientes) y otro con INL  $< 3$  (43

pacientes). Se encontró asociación entre el INL  $\geq 3$  y el resultado obtenido con la primera línea de tratamiento, la aparición de progresión de la enfermedad y/o recaída y el número de líneas de quimioterapia recibidas ( $p=0.001$ ,  $0.003$  y  $0.013$  respectivamente). Al realizar la comparación con otras escalas como el R-IPI y el NCCN-IPI, la primera tuvo asociación estadísticamente significativa ( $p=0.049$  vs  $0.698$ ). El resto de las características de ambos grupos se describen en la Tabla 1.

Se observó respuesta completa en 40 pacientes (48.1%) y respuesta parcial en 23 (27.7%). La respuesta global fue de 75.9%. Veinte pacientes (24%) presentaron progresión durante el tratamiento de primera línea. Veintiséis pacientes (31.3%) recibieron consolidación con RT y sólo dos con trasplante de células progenitoras. Únicamente 11 pacientes (27.5%) en el grupo de INL  $\geq 3$  alcanzaron RC.

En el análisis univariado se tomaron en consideración edad  $\geq 60$  años, DHL elevada al diagnóstico, presencia de actividad extranodal, estadio avanzando de la enfermedad al diagnóstico, ECOG  $\geq 2$  e INL  $\geq 3$ , con los resultados de la supervivencia de los pacientes. Se encontró que el INL  $\geq 3$  fue estadísticamente significativo con un valor de  $p=0.013$  (OR 3.107). Mediante el análisis multivariado por regresión logística se mostró significancia estadística en cuanto al INL  $\geq 3$ , con un valor de  $p=0.015$ . El resto de las variables fueron no significativas (Tabla 2).

Figura 1. Flujograma de selección de pacientes.



**Tabla 1.** Características clínicas y de laboratorio de 83 pacientes con linfoma difuso de células grandes B de un hospital de tercer nivel del noreste de México, clasificados con base al INL.

	Total (n=83)	INL ≥3 (n=40)	INL <3 (n=43)	P
Sexo				
Femenino	32 (38.5%)	18 (45%)	14 (32.5%)	0.174
Masculino	51 (61.4%)	22 (55%)	29 (67.4%)	
Edad (años)	61±12.3	60±12.9	61±11.5	----
DHL (V.N. 243)				
Elevada <3 veces	37 (44.5%)	19 (47.5%)	18 (41.8%)	0.062
Elevada ≥3 veces	7 (8.4%)	6 (15%)	1 (2.3%)	
Estadio				
Temprano (I-II)	30 (36.1%)	10 (25%)	20 (46.5%)	0.151
Avanzado (III-IV)	53 (63.8%)	30 (75%)	23 (53.4%)	
Actividad extranodal	34 (41%)	18 (45%)	16 (37.2%)	0.309
ECOG (desempeño)				
Bueno (0-1)	67 (80.7%)	30 (75%)	37 (86%)	0.480
Malo (>2)	16 (19.2%)	10 (25%)	6 (13.9%)	
NCCN-IPI				
Riesgo bajo	8 (9.6%)	2 (5%)	6 (13.9%)	0.698
Riesgo intermedio-bajo	36 (43.3%)	16 (40%)	20 (46.5%)	
Riesgo intermedio-alto	35 (42.1%)	20 (50%)	15 (34.8%)	
Riesgo alto	4 (4.8%)	2 (5%)	2 (4.6%)	
Resultado a 1ra línea				
Respuesta completa	40 (48.1%)	11 (27.5%)	29 (67.4%)	0.001
Respuesta parcial	23 (27.7%)	14 (35%)	9 (20.9%)	
Enfermedad estable	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
Progresión	20 (24%)	15 (37.5%)	5 (11.6%)	
Progresión y/o recaída	38 (45.7%)	25 (65.8%)	13 (34.2%)	0.003
Nº de líneas de QT				
1 línea	49 (59%)	17 (42.5%)	32 (74.4%)	0.013
2 líneas	16 (19.2%)	11 (27.5%)	5 (11.6%)	
3 o más líneas	18 (21.6%)	12 (30%)	6 (13.9%)	

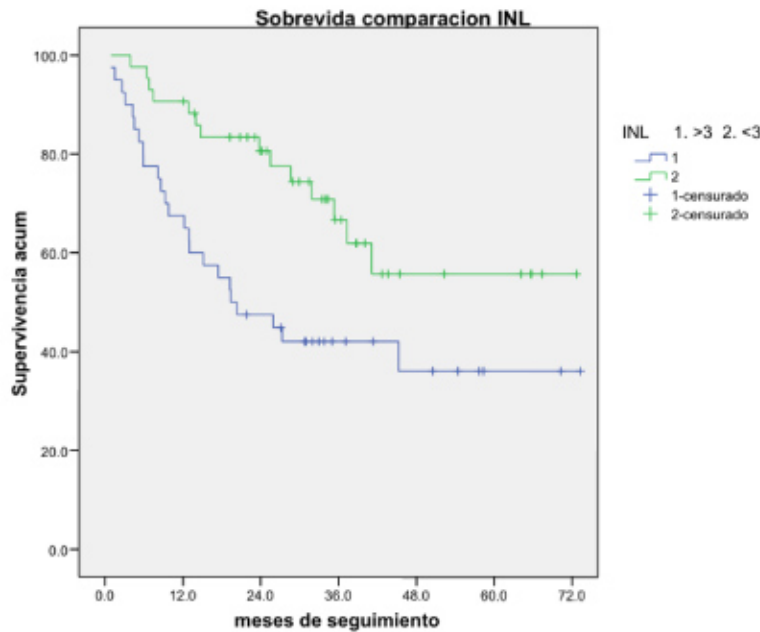
Los valores para variables categóricas se muestran como número (porcentaje); para variables continuas, como mediana ± desviaciones estándar. n=número de pacientes, DHL=deshidrogenasa láctica, ECOG=Eastern Cooperative Oncology Group, R-IPI=Revised International Prognostic Index, NCCN-IPI=National Comprehensive Cancer Network International Prognostic Index, QT=quimioterapia.

**Tabla 2.** Análisis univariado de factores pronósticos y sobrevida de 83 pacientes con linfoma difuso de células grandes B.

	OR	IC 95%	p
INL ≥3	3.10	1.26 - 7.62	0.013
DHL elevada	1.18	0.497 - 2.810	0.706
Estadio avanzado	1.44	0.58 - 3.58	0.426
Edad >60 años	1.95	0.811 - 4.73	0.133
AT extranodal	1.33	0.55 - 3.21	0.520
ECOG >2	1.23	0.414 - 3.67	0.706

Abreviaturas: INL=Índice Neutrófilo/Linfocitos, DHL=deshidrogenasa láctica, ECOG=Eastern Cooperative Oncology Group, AT= actividad.

**Figura 2.** Sobrevida global de acuerdo con el índice Neutrófilo/Linfocito en 83 pacientes con Linfoma Difuso de Células Grandes B en un Hospital de tercer nivel del Noroeste de México diagnosticados 2014-2018



## Discusión

El LDCGB representa hasta un 40% de todos los casos de linfoma no Hodgkin, siendo la variante más frecuente<sup>(3)</sup>. La mediana de edad y el predominio en el sexo masculino descrito en este trabajo, va acorde a lo encontrado en la literatura<sup>(8)</sup>. Éste es el primer trabajo a nivel institucional en correlacionar INL con la sobrevida global en LDCGB.

Se compararon los resultados contra un estudio que fracasó en demostrar el valor pronóstico del INL y se observaron diferencias en la mediana de edad, 61<sup>(26-85)</sup> años vs 69<sup>(20-95)</sup> años, y el punto de corte para definir como elevado el INL (3 vs 5.2). En ambos estudios hubo predominancia por el sexo masculino, 61.4% y 59% respectivamente. El punto de corte más alto en el estudio de Azuma y cols.<sup>(27)</sup> puede ser la causa de la diferencia entre los resultados. En nuestro trabajo se utilizó un corte de  $\geq 3$  así como en los trabajos de Keam<sup>(23)</sup> y Wang<sup>(24)</sup> quienes dividieron a sus poblaciones en 2 grupos similares en cantidad de pacientes. La SG en los pacientes con un INL  $\geq 3$  fue de un 36%, resultando ligeramente superior que en otros estudios<sup>(25)</sup>.

En el análisis por grupos, en el grupo con INL  $\geq 3$  se observaron menores porcentajes de respuesta completa y mayores porcentajes de progresión y/o recaída que el grupo con INL  $< 3$ . Esto probablemente sea

un reflejo de la influencia negativa de la respuesta inflamatoria asociada al cáncer en los resultados al tratamiento<sup>(14,16,19)</sup>.

No se encontró que el INL elevado se asociara con una mayor incidencia de infiltración a la médula ósea, mayor edad, peor ECOG o cifras elevadas de LDH al diagnóstico, como se reportó en un metaanálisis publicado en 2018<sup>(17)</sup> pero sí se encontró una asociación significativa e independiente entre el INL al diagnóstico y el pronóstico pobre de los pacientes, congruente con otras publicaciones<sup>(21)</sup>.

El trabajo de Porrata y cols.<sup>(18)</sup> representó el primer análisis multivariado que propuso al INL como un factor pronóstico independiente, mientras que el estudio Ho y cols.<sup>(22)</sup> confirmó su capacidad predictiva en el análisis univariado. En este estudio se demostró una asociación entre un INL  $\geq 3$  y una menor sobrevida global en LDCGB, tanto en el análisis univariado como en el multivariado.

Cabe resaltar que se encontró una asociación entre el INL y el R-IPI ( $p=0.049$ ), no así la asociación entre INL y NCCN-IPI ( $p=0.698$ ). Este hallazgo es similar al de Ho y cols.<sup>(22)</sup> y contrasta con las publicaciones de Melchardt y cols.<sup>(28)</sup> y Beltrán y cols.<sup>(29)</sup>, en donde se valida la asociación entre INL y NCCN-IPI.

Con nuestro trabajo se demostró el impacto pronóstico del INL elevado al diagnóstico, validándolo como

un parámetro accesible y fácilmente aplicable para predecir el pronóstico en los pacientes con LDCGB. También se confirma, por primera vez a nivel institucional, el rol pronóstico del R-IPI en nuestra población.

Dentro de las limitaciones de este estudio resalta el número pequeño de pacientes incluidos, siendo el principal motivo de exclusión el expediente clínico incompleto. Por otro lado, el punto de corte óptimo para el INL no está estandarizado, encontrándose diferentes valores en la literatura<sup>(18,21,22,25,26)</sup>.

## Conclusiones

El Índice Neutrófilo/Linfocito elevado al diagnóstico se asocia a peor respuesta al tratamiento de primera línea con esquema R-CHOP, menor supervivencia global y menor supervivencia libre de enfermedad en los pacientes con linfoma difuso de células grandes B.

El Índice Neutrófilo/Linfocito es una herramienta de bajo costo y útil para emplearse como modelo pronóstico.

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

## Bibliografía

1. Aiaenberg, AC. Historical review of lymphomas. *Br J Haematol.* 2000; 109(3):466-476.
2. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA y cols. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood.* 2016;127(20):2375-2390.
3. Diumenjo MC, Abriata G, Forman D y cols. The burden of non-Hodgkin lymphoma in Central and South America. *Cancer Epidemiol.* 2016; 44:S168-S177.
4. Horvat M, Zadnik V, Južnič T y cols. Diffuse large B-cell lymphoma: 10 years' real-world clinical experience with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisolone. *Oncol Lett.* 2018 Mar;15(3):3602-3609.
5. Gena Kanas, Wenzhen Ge, Ruben G. W. y cols. Epidemiology of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) and follicular lymphoma (FL) in the United States and Western Europe: population-level projections for 2020-2025. *Leuk. Lymphoma.* 2022;63(1): 54-63.
6. International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med.* 1993; 329(14):987-994.
7. Sehn LH, Berry B, Chhanabhai M y cols. The revised International Prognostic Index (R-IPI) is a better predictor of outcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Blood.* 2007;109(5):1857-1861.
8. Coiffier B, Lepage E, Briere J y cols. CHOP Chemotherapy plus Rituximab Compared with CHOP Alone in Elderly Patients with Diffuse Large-B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* 2002; 346:235-242.
9. Tomita N, Takasaki H, Miyashita K y cols. R-CHOP therapy alone in limited stage diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol.* 2013; 161(3):383-388.
10. Zelenetz AD y cols. (coords.). NCCN Guidelines Insights: B-Cell Lymphomas, Version 3.2019: Featured Updates to the NCCN Guidelines. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network.* 2019; 17(6):650-661.
11. Liu Y y Barta SK. Diffuse large B-cell lymphoma: 2019 update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *Am J Hematol.* 2019; 94(5):604-616.
12. Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF y cols. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of hodgkin and non-hodgkin lymphoma: The Lugano classification. *J Clin Oncol.* 2014; 32(27):3059-3067.
13. Berraondo P, Minute L, Ajona D y cols. Innate immune mediators in cancer: between defense and resistance. *Immunol Rev.* 2016; 274(1):290-306.
14. Kang MH, Go SI, Song HN y cols. The Prognostic Impact of the Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Patients with Small-Cell Lung Cancer. *Br J Cancer.* 2014;111(3):452-460.
15. Proctor MJ, Morrison DS, Talwar D y cols. A comparison of inflammation-based prognostic scores in patients with cancer. *A Glasgow Inflammation Outcome Study. Eur J Cancer.* 2011; 47(17):2633-2641.
16. Noh H, Eomm M y Han A. Usefulness of pretreatment neutrophil to lymphocyte ratio in predicting disease-specific survival in breast cancer patients. *J Breast Cancer.* 2013;16(1):55-59.

17. Mu S, Ai L, Fan F y cols. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in diffuse large B cell lymphoma patients: an updated dose-response meta-analysis. *Cancer Cell Int.* 2018;18(1):119.
18. Porrata L, Ristow K, Habermann T y cols. Predicting survival for diffuse large B-cell lymphoma patients using baseline neutrophil/lymphocyte ratio. *Am J Hematol.* 2010;85(11):896-899.
19. Guthrie GJ, Charles KA, Roxburgh CS y cols. The systemic inflammation-based neutrophil-lymphocyte ratio: Experience in patients with cancer. *Crit Rev Onc.* 2013;88(1):218-230.
20. Lee SM, Russell A y Hellawell G. Predictive value of pretreatment inflammation-based prognostic scores (Neutrophil-to-lymphocyte ratio, platelet-to-lymphocyte ratio, and lymphocyte-to-monocyte ratio) for invasive bladder carcinoma. *Korean J Urol.* 2015; 56(11):749-755.
21. Troppan K, Deutsch A, Gerger A y cols. The derived neutrophil to lymphocyte ratio is an independent prognostic factor in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Cancer.* 2014; 110(2):369-374.
22. Ho CL, Lu CS, Chen JH y cols. Neutrophil/Lymphocyte Ratio, Lymphocyte/Monocyte Ratio, and Absolute Lymphocyte Count/Absolute Monocyte Count Prognostic Score in Diffuse Large B-Cell Lymphoma: Useful Prognostic Tools in the Rituximab Era. *Medicine.* 2015; 94(24):e993.
23. Keam B, Ha H, Kimv TM y cols. Neutrophil to lymphocyte ratio improves prognostic prediction of International Prognostic Index for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone. *Leuk Lymphoma.* 2015; 56(7):2032-2038.
24. Wang J, Zhou M, Xu JY y cols. Prognostic role of pretreatment neutrophil/lymphocyte ratio in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with RCHOP. *Medicine.* 2016; 95(38):1-5.
25. Go SI, Park S, Kim JH y cols. A new prognostic model using the NCCN-IPI and neutrophil-to-lymphocyte ratio in diffuse large B-cell lymphoma. *Tumori Journal.* 2018; 104(4):292-299.
26. Go Wang S, Ma Y, Sun L y cols. Prognostic Significance of Pretreatment Neutrophil/Lymphocyte Ratio and Platelet/Lymphocyte Ratio in Patients with Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Biomed Res Int.* 2018; 2018:9651254.
27. Azuma Y, Nakaya A, Fujita S y cols. Neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) fails to predict outcome of diffuse large B cell lymphoma. *Leuk Res Rep.* 2019; 12:100173.
28. Melchardt T, Troppan K, Weiss L y cols. Independent prognostic value of serum markers in diffuse large B-cell lymphoma in the era of the NCCN-IPI. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network.* 2015;13(12):1501-1508.
29. Beltrán BE, Paredes S, Cotrina E y cols. The impact of the neutrophil: lymphocyte ratio in response and survival of patients with de novo diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia Research.* 2018; 67:82-85.
30. Annibali O, Hohaus S, Marchesi F y cols. The neutrophil/lymphocyte ratio  $\geq 3.5$  is a prognostic marker in diffuse large B-cell lymphoma: a retrospective analysis from the database of the Italian regional network 'Rete Ematologica del Lazio per I Linfomi' (RELLI). *Leuk Lymphoma.* 2019; 60(14):3386-3394.



**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.

# “Sé lo que quiero, y estoy dispuesto a esperarlo”. Nacimiento de la Subcomisión de Economía y Salud de la Sociedad Argentina de Hematología

"I know what I want, and I'm willing to wait for it." Birth of the Subcommittee on Economics and Health of the Argentine Society of Hematology

*Albarracin F1; Solimano J2*

<sup>1</sup> Hospital Universitario, Mendoza

<sup>2</sup> Cemic, CABA

flavio.albarracin@hospital.uncu.edu.ar



EDITORIAL

HEMATOLOGÍA  
Volumen 26 n° 2: 53-54  
Mayo - Agosto 2022

**Palabras claves:** hematología,  
economía de la salud,  
investigación de resultados.

**Keywords:** hematology,  
health economics,  
research outcomes.

“No sé lo que quiero, pero lo quiero ya”, reza la letra de Luca Prodan, aquel genial artista nacido en Roma y educado en el colegio escocés de altísima sociedad Gordonstoun School (por cierto, asistía el Príncipe Carlos de Inglaterra en ese momento). Ese italiano supo transmitir en muchas de sus letras el ADN argentino casi tanto como nos lo hicieron saber los ensayos del gran Ortega y Gasset a principios del siglo pasado en sus tres viajes a nuestras tierras.

Sin embargo, en este trascendental momento del nacimiento de esta Subcomisión de Economía y Salud de la Sociedad Argentina de Hematología (SAH) nos gustaría graficarla mejor con un lema distinto: “Sé lo que quiero, y estoy dispuesto a esperarlo”. En consonancia con la tarea que hoy nos toca desarrollar como parte integrante de ella, intentaremos a continuación dar algunos conceptos a propósito de los abordajes que esta Subcomisión tendrá como propósito:

**La Economía de la Salud** se focaliza en medir y valorar los resultados de las intervenciones en salud.

**La Investigación de Resultados** comprende un

conjunto de disciplinas científicas que evalúan los efectos de las intervenciones en salud en los pacientes.

**Health Economics and Outcomes Research (HEOR)**, se refiere a la confluencia de ambos campos trabajando en conjunto para proveer a los decisores de salud de las mejores perspectivas y de los datos más confiables y robustos.

El interés en el campo de **HEOR** ha crecido exponencialmente a medida que tanto Gobierno como financiadores de la salud trabajan por cómo proporcionar los mejores resultados en salud para la población a los costos más asequibles.

En la realidad de hoy, los decisores de salud alrededor del mundo se enfrentan frecuentemente con la **necesidad de seleccionar intervenciones terapéuticas desde múltiples opciones**, incluyendo biofármacos, dispositivos médicos y/o servicios de salud. Sin embargo, los beneficios y los costos de estas intervenciones pueden variar dramáticamente. Estos beneficios pueden ser: clínicos, económicos, de ambos, o incluso difíciles de medir en cuanto a

que impacten en el paciente directamente. **HEOR** puede ayudar a los decisores en salud, incluyendo a médicos prescriptores, gobiernos, financiadores del sector público y privado, pacientes y otros, a comparar adecuadamente y elegir entre las opciones disponibles.

La Sociedad Argentina de Hematología es una institución en constante cambio que no está ajena a la realidad, y que, como toda institución primordialmente científica, tiene sus tiempos de evolución. Creemos firmemente que ese tiempo ayudó a determinar el verdadero objetivo a perseguir con esta nueva Subcomisión y su mirada puesta en el estudio de **HEOR**.

**El Objetivo de esta Subcomisión** estará puesto en avanzar en el aspecto de **conocimiento y difusión** hacia nuestros profesionales en esta tan novel subespecialidad con temáticas sobre: Economía de la Salud, Farmacoeconomía, Evaluaciones de Tecnologías Sanitarias, Uso de la Evidencia Científica para la mejor toma de decisiones en salud, Evidencia en la Vida Real, entre otras cuantas asignaturas.

Queremos decirles a todos los socios de nuestra querida SAH que realizaremos todo el esfuerzo que esté a nuestro alcance dando lo mejor de nosotros en pos de lograr la mayor excelencia y calidad como nuestra Sociedad se merece.

Finalmente, un enorme agradecimiento a las autoridades de la Comisión Directiva de la SAH por depositar su confianza en nosotros. No queremos dejar de resaltar que esta tarea se va a construir entre todos y que esta Subcomisión seguramente nos trascenderá en el futuro hacia aquellas generaciones de hematólogos jóvenes a quienes les tocará lidiar con esta problemática cada vez en mayor crecimiento.

A continuación, compartimos Misión, Objetivos y Acciones que esta Subcomisión de Economía y Salud tiene como propósito desarrollar:

#### **Nuestra Misión:**

- esta Subcomisión se constituye con el objetivo fundamental de contribuir al conocimiento y difusión de conceptos de la Economía aplicados a la Hematología para la mejor toma de decisiones en Salud.

#### **Objetivos:**

##### **Objetivos Educativos para y con los socios de la SAH:**

- conocer los conceptos claves de la Economía de la Salud en los análisis de la demanda y de la oferta de la atención sanitaria.
- aplicar dichos conceptos para analizar y valorar el mercado sanitario, el mercado de medicamentos, el comportamiento de los profesionales, los incentivos a usuarios y proveedores y el papel de los distintos tipos de regulación y su impacto en términos de eficiencia y equidad.
- entender y aplicar los conceptos de equidad para valorar las desigualdades en salud, en acceso y en utilización de servicios sanitarios.
- incorporar las herramientas para la investigación de resultados en salud y la evaluación de tecnologías sanitarias en el proceso de toma de decisiones en salud.
- conocer los métodos de evaluación económica de tecnologías sanitarias y saber interpretar con visión crítica un estudio de evaluación económica en el ámbito de la salud.

##### **Objetivos de Interrelación con otras Subcomisiones de la SAH y resto de entidades para:**

- coordinar acciones conjuntas en la elaboración de Guías incorporando conceptos de Farmacoeconomía aplicados a las distintas subespecialidades de la Hematología.
- brindar asesoramiento toda vez que no implique un conflicto de interés hacia los fines académicos perseguidos por la SAH.

#### **Acciones:**

- elaboración de documentos escritos, charlas y distintos medios de material para difusión.
- presencia en Reuniones Científicas.
- establecimiento de relaciones con Sociedades similares del país y del extranjero.
- publicación de trabajos de interés científico en esta temática.
- asesoramiento a requisito de las autoridades sobre problemas atinentes a dicha Sub-Especialidad (con las consideraciones anteriormente expuestas que no impliquen un conflicto de interés real ni potencial).

# El riesgo de tromboembolismo venoso en el paciente hospitalizado no quirúrgico: "Una nueva estrategia para una vieja enemiga"

The risk of venous thromboembolism in the non-surgical hospitalized patient: "A new strategy for an old enemy"

Muñoz Rossi, F<sup>1</sup>; Puentes Rodríguez C<sup>2</sup>; Ricardo Ossio G<sup>3</sup>; Pico Barrios F<sup>4</sup>; Guzmán Figueredo L<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Facultad de Medicina interna, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

<sup>2</sup> Facultad de Medicina, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

<sup>3</sup> Clínica laser de piel, Bogotá, Colombia

<sup>4</sup> SURA IPS, Bogotá, Colombia

felipemrossi@gmail.com

Fecha recepción: 5/4/2022

Fecha aprobación: 5/7/2022



ARTÍCULO  
DE REVISIÓN

HEMATOLOGÍA  
Volumen 26 n° 2: 55-62  
Mayo - Agosto 2022

**Palabras claves:** trombosis venosa, tromboembolismo pulmonar, profilaxis, prevención.

**Keywords:** venous thrombosis, pulmonary thromboembolism, prophylaxis, prevention.

## Resumen

Los eventos tromboembólicos ocupan los primeros lugares de morbilidad prevenibles en los pacientes hospitalizados, así como también representan un aumento en la carga financiera y asistencial en los sistemas de salud. La aplicación de tromboprofilaxis en pacientes de manejo médico se implementa de forma subóptima debido al temor a presentar sangrado o por subestimación del riesgo de eventos trombóticos. La aplicación de herramientas para la estimación del riesgo de eventos tromboembólicos se plantea como una ayuda en la toma de la decisión de iniciar o no estrategias de tromboprofilaxis en pacientes hospitalizados con el objetivo de disminuir la incidencia y prevalencia de estos eventos, así como la morbilidad asociada.

## Abstract

Thromboembolic events occupy the first places of preventable morbidity and mortality in hospitalized patients as well as represent an increase in the financial and care burden on health systems. The application of thromboprophylaxis in medically managed patients is implemented suboptimally due to fear of bleeding or due to underestimation of the risk of thrombotic events. The application of tools for estimating the risk of thromboembolic events is proposed as an aid in making the decision to initiate or not thromboprophylaxis strategies in hospitalized patients with the aim of reducing the incidence and prevalence of these events as well as the associated morbidity and mortality.

## Método

Se realizó una revisión no sistemática de la evidencia publicada en algunas bases de datos como: Medline, PubMed, Google Scholar, EBSCO, entre otras. Se utilizaron palabras clave y términos MeSh.

## Introducción

Los eventos tromboembólicos venosos (TEV) como trombosis venosa profunda (TVP) y tromboembolismo pulmonar (TEP) pueden ser consideradas como unas de las causas de morbilidad prevenibles más importantes en el paciente hospitalizado. Son causantes de más muertes al año que las ocasionadas por cáncer de mama, virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y los accidentes de tránsito combinados, todo esto sin asociar los costos relacionados con TEV y su relación con el síndrome posttrombótico, que aumenta la morbilidad, los reingresos y, por consiguiente, significa una carga financiera para los sistemas de salud<sup>(1)</sup>.

Se ha evidenciado que entre un 25 y un 39% de los episodios de TEV ocurren en los tres meses posteriores a una hospitalización<sup>(2,3)</sup>. La incidencia de TVP en el ambiente intrahospitalario es del 15% aproximadamente. Adicionalmente se ha demostrado que el tromboembolismo pulmonar agudo es el responsable de entre el 5 y el 10% de todos los fallecimientos intrahospitalarios, siendo esta la primera causa de muerte prevenible en el paciente hospitalizado<sup>(4)</sup>.

Los principales factores de riesgo para la TEV son las cirugías recientes, traumatismo en extremidades inferiores, historia de inmovilización por hospitalización prolongada, obesidad, primer episodio de TEV, malignidad, uso de anticoncepción oral, terapia de reemplazo hormonal, embarazo o puerperio y el accidente isquémico cerebral. Todos los factores de riesgo anteriores obedecen a favorecer la triada de Virchow (estasis sanguínea, daño endotelial e hipercoagulabilidad) como evento fisiopatológico desencadenante de estas condiciones<sup>(4)</sup>. En el 80% de los pacientes con trombosis venosa aguda se puede identificar un factor de riesgo prevenible asociado a la aparición del evento<sup>(5)</sup>.

Esta revisión tiene como objetivo recopilar la mejor evidencia hasta la fecha para su aplicación correcta en la identificación de pacientes adultos que deban ser considerados para trombopprofilaxis farmacológica, con patología no quirúrgica de manejo médico,

sin antecedentes patológicos previos que requieran anticoagulación. Se excluyen de esta revisión pacientes que requieran algún tipo de intervención quirúrgica, pacientes de obstetricia y pacientes con antecedentes cardiovasculares.

## Trombopprofilaxis venosa

La trombopprofilaxis en el paciente hospitalizado continúa siendo un reto debido a que esta población tiende a ser de mayor edad, con múltiples enfermedades crónicas en manejo farmacológico que aumentan el riesgo de presentar interacciones medicamentosas con los fármacos anticoagulantes<sup>(6,7)</sup>. Las auditorías globales en población latinoamericana evidencian una subutilización de trombopprofilaxis por los clínicos en el paciente hospitalizado, principalmente porque se tiene una percepción de alto riesgo de sangrado o de bajo riesgo de TEV<sup>(8)</sup>. Por otro lado, estudios recientes indican que el abordaje de una trombopprofilaxis “universal” no reduce el riesgo de TVE en la población objeto y aumenta el riesgo de sangrado en pacientes hospitalizados<sup>(9,10)</sup>. Así mismo durante el período de alta inmediata del paciente hospitalizado de manejo médico no se reduce la probabilidad de riesgo de TVE<sup>(11)</sup>. Por ello resulta preciso estratificar a cada paciente según el riesgo para presentar eventos tromboembólicos para definir, en base en esta clasificación, la necesidad de trombopprofilaxis farmacológica

## Riesgo de tromboembolismo venoso en el paciente médico hospitalizado

Para evaluar de forma adecuada el riesgo de TVE es relevante dividir tal riesgo en 3 períodos, lo cual puede ayudar a crear una perspectiva no sólo del riesgo sino de la utilidad de la estrategia trombo profiláctica<sup>(12)</sup>.

### • Período agudo de hospitalización (6-14 días).

Éste representa el período de mayor riesgo de presentar TEV que depende principalmente del grado de inmovilidad y severidad de la enfermedad por la cual ingresa el paciente, puede deberse a una exacerbación aguda de una enfermedad crónica. La incidencia de episodios tromboembólicos durante este período varía entre 10% a 26%<sup>(13,14)</sup>. Así mismo la mayoría de TEV son asintomáticas. Hasta en un 55% de los pacientes que presentan episodios de TEV presentan un antecedente reciente de isquemia cerebral, falla cardíaca o EPOC<sup>(15,16)</sup> y

hasta un 75% de los TEP ocurren en población hospitalizada por enfermedades de manejo médico<sup>(17)</sup>. Estudios controlados por placebo con heparina de bajo peso molecular (HBPM) y pentasacárido fondaparinux demostraron una reducción de aproximadamente el 50% de TEV con una duración de 14 días<sup>(18-20)</sup>, con evidencia adicional de reducción del 60% en cualquier TEP incluyendo los eventos fatales. Sin embargo, la tromboprofilaxis no tuvo efecto en la mortalidad por cualquier causa<sup>(21)</sup>.

- **Período de alta posterior a la hospitalización (hasta los 45 días posteriores al egreso).** Puede extenderse hasta 90 días posteriores al ingreso. Es de riesgo para desarrollo de TEV, siendo los primeros 45 días los de mayor probabilidad con un 80% de los casos siendo ocasionados bien sea por exacerbación de enfermedad crónica o por los factores de riesgo intrahospitalarios para presentar TEV<sup>(11)</sup>. En estos pacientes es pertinente evaluar la tromboprofilaxis extendida (hasta 45 días). Cuatro estudios compararon duración corta (6 a 14 días) frente a duración extendida de la tromboprofilaxis, que en este último grupo estuvo asociada a una disminución TVP sintomática proximal o distal (RR: 0.52) y de TEP sintomático no fatal. (RR: 0.61)<sup>(22)</sup>. Sin embargo, se evidenció un riesgo incrementado de dos veces más de sangrado mayor<sup>(22,23)</sup>.
- **Período de enfermedad crónica.** En este período el riesgo de TEV depende de la condición crónica del paciente y de su estado funcional<sup>(12)</sup>. Algunas patologías, como la enfermedad cerebro vascular

isquémica, falla cardíaca, EPOC, infecciones de inicio reciente, enfermedad inflamatoria intestinal y reumática, están asociadas a un alto riesgo de TEV durante este período<sup>(2)</sup>.

### Individualización del riesgo de eventos tromboembólicos en los pacientes hospitalizados

La tromboprofilaxis es implementada de forma deficiente sin tener en cuenta los diferentes períodos de riesgo de TEV de los pacientes, motivo por el cual ha surgido la necesidad del desarrollo de modelos de evaluación para medir el riesgo en los pacientes hospitalizados en manejo médico. Aquellas herramientas ayudan a la toma de decisiones clínicas para estratificar el riesgo de TEV en pacientes, mejorando el uso de la tromboprofilaxis en la población de riesgo<sup>(23)</sup>. Kucher y col lograron demostrar que el uso de tales herramientas incrementó el uso de la tromboprofilaxis permitiendo una reducción de las tasas de TEV en pacientes hospitalizados<sup>(24)</sup>.

Durante una revisión sistemática se encontró que sólo los modelos de riesgo de Padua e *IMPROVE* contaban con una validación externa amplia, mientras que *UK National Health Service (NHS)* presenta una evaluación de resultados amplia<sup>(11,25,26)</sup>.

El modelo de Padua usa 11 factores con una puntuación individual entre 1-3, donde el riesgo se considera alto con un puntaje superior a 4, por lo que en ese caso se considera al paciente candidato para profilaxis farmacológica. Con un puntaje entre 1 y 3 se considera un riesgo bajo para TEV (Tabla 1)<sup>(25)</sup>.

**Tabla 1. Puntaje Padua:** puntuación entre 1-3, donde el riesgo alto se determina con un puntaje superior a 4

Factor de riesgo	Puntos
Reducción movilidad	3
Cáncer activo	3
Antecedente TVP	3
Condición trombofilia conocida	3
Trauma o cirugía reciente*	2
Mayor de 70 años	1
Falla cardíaca o respiratoria	1
Infarto agudo de miocardio o ACV*	1
Tratamiento hormonal en curso	1
Obesidad***	1
Infección aguda o enfermedad autoinmune	1

\*<1 mes.

\*\*Accidente cerebrovascular isquémico

\*\*\* IMC>30

El modelo *IMPROVE* utiliza siete factores de riesgo clínico asociados independientemente a TEV donde toma en cuenta la severidad de la condición de hospitalización en base a la admisión en la unidad de cuidado intensivo (UCI) o la unidad de cuidado coronario (UCC)<sup>(27)</sup>. El modelo usa uno a tres puntos para estimar el riesgo de TEV en tres categorías: bajo riesgo de TEV (TEV sintomático < 1%) asignado con un puntaje de 0-1, riesgo moderado de TEV con eventos entre 1 y 1.5% son designados con una puntuación de 2 a 3, y riesgo alto de TEV con probabilidad de sufrir un TEV sintomático del 4% o más designado con puntaje de 4 o más (Tabla 2)<sup>(12)</sup>.

Todos los modelos clínicos de riesgo TEV en la población hospitalizada en manejo médico, como Padua e *IMPROVE*, sugieren que se están cometiendo dos errores cuando establecemos una estrategia profiláctica amplia “universal” o por “grupos” como es sugerido frecuentemente, principalmente por la guía antitrombótica<sup>(27)</sup>.

Los modelos apuntan contundentemente (con valores predictivos negativos alrededor de 99%) al hecho de que sólo aproximadamente el 35-50% de la población hospitalizada tiene un riesgo de TEV suficiente para justificar la trombotoprofilaxis farmacológica, utilizando la tasa de eventos sintomáticos de TEV 1% como umbral clínico sugerido, por el cual los beneficios superan el riesgo de sangrado<sup>(11,25,28)</sup>. Los modelos también sugieren que, dependiendo del punto de corte que se utilice, aproximadamente el 10-25% de esta población objeto tiene un riesgo alto de TEV<sup>(11,25,28)</sup>. Por lo tanto, es muy probable que exista un exceso en el manejo profiláctico de hasta

un 65% de los pacientes que realmente tiene un riesgo bajo de TEV y adicionalmente subestimemos el manejo profiláctico hasta un 25% de los pacientes con riesgo alto de TEV, predominantemente por una duración corta de la trombotoprofilaxis, especialmente en el período de alta hospitalaria<sup>(29)</sup>.

Actualmente sólo disponemos de un modelo de riesgo de sangrado para esta población, que utiliza el mismo sistema de puntaje que su contraparte para riesgo de TEV: *IMPROVE bleed RAM*<sup>(30)</sup> *IMPROVE bleed* (Tabla 3) usa 13 factores clínicos y de laboratorio, por el cual una puntuación de 7 o más identifica a la población objeto con un alto riesgo de sangrado (4.1% vs 0.4%)<sup>(30)</sup>. Este modelo fue validado en una cohorte de 12000 pacientes, con una buena distribución de características de la población de estudio<sup>(31)</sup>. Actualmente ambos modelos de riesgo para TEV (*IMPROVE* y Padua) y el modelo de riesgo de sangrado (*IMPROVE bleed*) pueden ser usados al ingreso y ayudar así a determinar el riesgo individual de presentar un TEV y un sangrado mayor, siendo dentro de la medida “centrada en el paciente” al momento de tomar una conducta de trombotoprofilaxis menos “universal” o “grupal”.

Concluyendo, pacientes con un puntaje de Padua de 4 o más, *IMPROVE TEV* de 2 o más, con un puntaje de *IMPROVE bleed*  $\leq 7$ , debe garantizarse la profilaxis farmacológica durante su estancia hospitalaria. Mientras que aquéllos con una *IMPROVE bleed* de 7 o más puntos deberá recibir probablemente una profilaxis mecánica con dispositivos o medidas de compresión. Otra herramienta que permite establecer el diagnóstico de episodios trombóticos es el dímero

**Tabla 2. IMPROVE puntaje:** bajo riesgo de TEV asignado con un puntaje de 0-1, riesgo moderado de TEV son designados con una puntuación de 2 a 3, y alto riesgo de TEV con probabilidad de sufrir un TEV sintomático del 4% o más designado con puntaje de 4 o más.

Factor de riesgo	Puntos
Antecedente de TVP	3
Trombofilia	2
Parálisis miembros inferiores	2
Cáncer*	2
Inmovilización**	1
Estancia en UCI o UCC	1
Mayor de 60 años	1

\*Incluye cáncer activo o en los últimos 5 años. (no puntúa cánceres de piel diferentes a melanoma).

\*\*Confinamiento a cama o silla  $\geq 7$  días

UCI: Unidad de cuidado intensivo, UCC: Unidad de cuidado coronario.

D, un biomarcador producto de la degradación de la fibrina que se eleva a más de tres veces su valor de referencia en eventos tromboembólicos, dándole una alta sensibilidad<sup>(32)</sup>. Sin embargo, dicho marcador carece de especificidad al presentar alteraciones de su valor en otras condiciones médicas que también aumentan el riesgo de eventos tromboembólicos, como el cáncer, los traumas, las gestaciones de alto riesgo, la edad avanzada y los estados posoperatorios<sup>(33)</sup>. Dicho marcador presenta un mayor rendimiento para excluir más que para diagnosticar eventos tromboembólicos, por lo que la recomendación producto de diversos ensayos concluye en medir dicho marcador en un escenario clínico donde el TEV sea una opción diagnóstica con una baja probabilidad y cuando no exista una condición preexistente que pueda arrojar un resultado positivo<sup>(34)</sup>.

Sin embargo, el estudio *PROLONG* del 2008 demostró la utilidad del dímero D para estimar el riesgo de recurrencia de TEV en pacientes con antecedente de dicho evento una vez se suspende el tratamiento anticoagulante con antagonistas de la vitamina K<sup>(35)</sup>. La revisión sistemática realizada por Verhovsek y colaboradores en 2008 evidenció que los pacientes con valores de dímero D aumentados al valor de referencia ajustado a la edad tienen hasta dos veces

más riesgo de presentar TEV durante los doce meses siguientes<sup>(36)</sup>. Estudios más recientes evidencian que tras la suspensión de los antagonistas de vitamina K los niveles aumentados de dímero D posteriores a un mes son predictores de recurrencia de dichos eventos con un HR de 3.3 (95% CI 1.8–6.1)<sup>(37)</sup>. Adicionalmente basta señalar que dicho marcador tiene mayor rendimiento en episodios de TEV no provocado y no ha demostrado mayor utilidad en episodios de TEV provocado cuya causa se ha resuelto<sup>(38)</sup>.

### Conclusiones

Los eventos tromboembólicos venosos son enfermedades con una alta morbi-mortalidad, representan una carga importante para los sistemas de salud y representan la principal causa de muerte prevenible en los pacientes hospitalizados. Sin embargo, la aplicación de estrategias universales de tromboprolifaxis acarrea muchos riesgos para los pacientes que muchas veces no se justifica. Por lo cual se han desarrollado múltiples herramientas para la detección e individualización del riesgo de TEV en los pacientes buscando aplicar protocolos de tromboprolifaxis indicados de forma pertinente disminuyendo así el riesgo de sangrado y complicaciones en estos pacientes.

**Tabla 3. IMPROVE BLEED:** puntuación de 7 o más identifica a la población objeto con un alto riesgo de sangrado (4.1% vs 0.4%)

Factor de riesgo	Puntos
Falla renal TFG 30-59	3
Hombre	2
Edad entre 40-80 años	2
Cáncer actual	2
Enfermedad autoinmune	1
Catéter venoso central	1
Estancia en UCI o UCC	1
Falla renal TFG <30	
Falla hepática (INR>1.5)	
Edad ≥ 85 años	
Plaquetas <50000	
Sangrado en los últimos 3 meses*	
Úlcera gastroduodenal activa	

\*Antes de la hospitalización

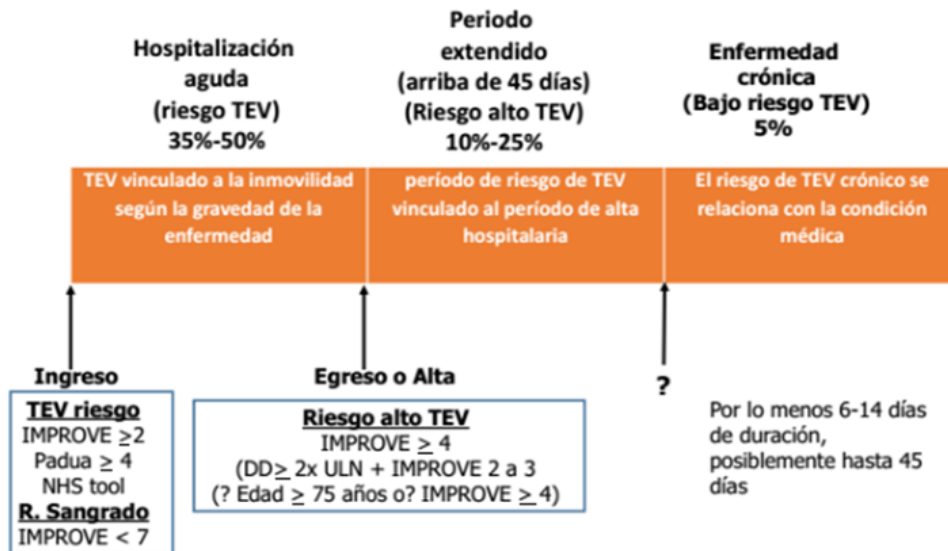
TFG: Tasa de filtración glomerular.

Unidad de cuidado intensivo, UCC: Unidad de cuidado coronario.

Sin embargo, dichas herramientas se utilizan de forma subóptima, bien sea por subestimación del riesgo tromboembólico de los pacientes o por sobre estimación de las complicaciones inherentes a la tromboprofilaxis farmacológica, por lo que resulta preciso el esfuerzo de los centros hospitalarios en la implementación de dichas herramientas

con el objetivo de iniciar tromboprofilaxis guiados por elementos de juicio que permitan particularizar qué estrategia resulta más benéfica para el paciente y así disminuir la incidencia y la recurrencia de estos eventos de forma razonada sin que sea el criterio clínico el único elemento de juicio para el inicio de dicha prevención.

**Figura 1.** tromboprofilaxis individualizada en pacientes médicos hospitalizados. Tomado de: Spyropoulos AC, & Raskob GE. *Thromb Haemost.* 2017; 117: 1662-70.



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

### Bibliografía

- Ye F, Bell LN, Mazza J, Lee A, Yale SH. Variation in Definitions of Immobility in Pharmacological Thromboprophylaxis Clinical Trials in Medical Inpatients: A Systematic Review. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2018 Jan;24(1):13-21.
- Heit JA, Ashrani A, Crusan DJ, McBane RD, Petterson TM, Bailey KR. Reasons for the persistent incidence of venous thromboembolism. *Thromb Haemost.* 2017 Jan 26;117(2):390-400.
- Spencer FA, Emery C, Lessard D, Anderson F, Emani S, Aragam J et al. The Worcester Venous Thromboembolism study: a population-based study of the clinical epidemiology of venous thromboembolism. *J Gen Intern Med.* 2006 Jul;21(7):722-7.
- Douketis JD. Prevention of venous thromboembolism in hospitalized medical patients: addressing some practical questions: *Curr Opin Pulm Med.* 2008 Sep;14(5):381-8.
- Marušič AP, Locatelli I, Mrhar A, Caprnda M, Gaspar L, Adamek M et al. Influence of Prescribed Blood Products on the Incidence of Deep Vein Thrombosis and Pulmonary Embolism in Surgical Patients. *Clin Appl Thromb.* 2017 Nov;23(8):938-42.
- Veeranki SP, Xiao Z, Levorsen A, Sinha M, Shah BR. Real-World Comparative Effectiveness and Cost Comparison of Thromboprophylactic Use of Enoxaparin versus Unfractionated Heparin in 376,858 Medically Ill Hospitalized US Patients. *Am J Cardiovasc Drugs.* 2021 Jul;21(4):443-452.
- Darzi AJ, Repp AB, Spencer FA, Morsi RZ, Charide R, Etzeandia-Ikobaltzeta I, Bauer KA, Burnett AE, Cushman M, Dentali F, Kahn SR, Rezende SM, Zakai NA, Agarwal A, Karam SG, Lotfi T, Wiercioch W, Waziry R, Iorio A, Akl EA, Schünemann HJ. Risk-assessment models for VTE and bleeding in hospitalized medical patients: an overview of systematic reviews. *Blood Adv.* 2020 Oct 13;4(19):4929-4944.

8. Cohen AT, Tapson VF, Bergmann J-F, Goldhaber SZ, Kakkar AK, Deslandes B et al. Venous thromboembolism risk and prophylaxis in the acute hospital care setting (ENDORSE study): a multinational cross-sectional study. *Lancet Lond Engl*. 2008 Feb;371(9610):387-94.
9. Mahan CE, Fisher MD, Mills RM, Fields LE, Stephenson JJ, Fu A-C et al. Thromboprophylaxis patterns, risk factors, and outcomes of care in the medically ill patient population. *Thromb Res*. 2013 Nov;132(5):520-6.
10. Flanders SA, Greene MT, Grant P, Kaatz S, Paje D, Lee B et al. Hospital performance for pharmacologic venous thromboembolism prophylaxis and rate of venous thromboembolism : a cohort study. *JAMA Intern Med*. 2014 Oct;174(10):1577-84.
11. Spyropoulos AC, Anderson FA, FitzGerald G, Decousus H, Pini M, Chong BH et al. Predictive and associative models to identify hospitalized medical patients at risk for VTE. *Chest*. 2011 Sep;140(3):706-14.
12. Spyropoulos AC, Raskob GE. New paradigms in venous thromboprophylaxis of medically ill patients. *Thromb Haemost*. 2017;117(09):1662-70.
13. MacDougall K, Spyropoulos AC. New Paradigms of Extended Thromboprophylaxis in Medically Ill Patients. *J Clin Med*. 2020 Apr 2;9(4):1002.
14. Cade JF. High risk of the critically ill for venous thromboembolism. *Crit Care Med*. 1982 Jul;10(7):448-50.
15. Nicolaides AN, Breddin HK, Fareed J, Goldhaber S, Haas S, Hull R et al. Prevention of venous thromboembolism. International Consensus Statement. Guidelines compiled in accordance with the scientific evidence. *Int Angiol J Int Union Angiol*. 2001 Mar;20(1):1-37.
16. Enders JM, Burke JM, Dobesh PP. Prevention of venous thromboembolism in acute medical illness. *Pharmacotherapy*. 2002 Dic;22(12):1564-78.
17. Cohen AT, Edmondson RA, Phillips MJ, Ward VP, & Kakkar VV. The changing pattern of venous thromboembolic disease. *Haemostasis*. 1996 Abr;26(2):65-71.
18. Samama MM, Cohen AT, Darmon JY, Desjardins L, Eldor A, Janbon C, Leizorovicz A, Nguyen H, Olsson CG, Turpie AG, Weisslinger N. A comparison of enoxaparin with placebo for the prevention of venous thromboembolism in acutely ill medical patients. Prophylaxis in Medical Patients with Enoxaparin Study Group. *N Engl J Med*. 1999 Sep 9;341(11):793-800.
19. Leizorovicz A, Cohen AT, Turpie AGG, Olsson C-G, Vaitkus PT, Goldhaber SZ et al. Randomized, placebo-controlled trial of dalteparin for the prevention of venous thromboembolism in acutely ill medical patients. *Circulation*. 2004 Ago;110(7):874-9.
20. Cohen AT, Davidson BL, Gallus AS, Lassen MR, Prins MH, Tomkowski W et al. Efficacy and safety of fondaparinux for the prevention of venous thromboembolism in older acute medical patients: randomised placebo controlled trial. *BMJ*. 2006 Feb;332(7537):325-9.
21. Dentali F, Douketis JD, Gianni M, Lim W et Crowther MA. Meta-analysis: anticoagulant prophylaxis to prevent symptomatic venous thromboembolism in hospitalized medical patients. *Ann Intern Med*. 2007 Feb;146(4):278-88.
22. Liew AYL, Piran S, Eikelboom JW et Douketis JD. Extended-duration versus short-duration pharmacological thromboprophylaxis in acutely ill hospitalized medical patients: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Thromb Thrombolysis*. 2017 Abr;43(3):291-301.
23. Stuck A, Spirk D, Schaudt J, & Kucher N. Risk assessment models for venous thromboembolism in acutely ill medical patients: A systematic review. *Thromb Haemost*. 2017;117(04):801-8.
24. Kucher N, Koo S, Quiroz R, Cooper JM, Paterno MD, Soukonnikov B, Goldhaber SZ. Electronic alerts to prevent venous thromboembolism among hospitalized patients. *N Engl J Med*. 2005 Mar 10;352(10):969-77.
25. Barbar S, Noventa F, Rossetto V, Ferrari A, Brandolin B, Perlati M et al. A risk assessment model for the identification of hospitalized medical patients at risk for venous thromboembolism: the Padua Prediction Score. *J Thromb Haemost JTH*. 2010 Nov;8(11):2450-7.
26. Lester W, Freemantle N, Begaj I, Ray D, Wood J et Pagano D. Fatal venous thromboembolism associated with hospital admission: a cohort study to assess the impact of a national risk assessment target. *Heart Br Card Soc*. 2013 Dic;99(23):1734-9.
27. Tapson VF, Decousus H, Pini M, Chong BH, Froehlich JB, Monreal M et al. Venous thromboembolism prophylaxis in acutely ill hospitalized medical patients: findings from the International Medical Prevention Registry on Venous Thromboembolism. *Chest*. 2007 Sep;132(3):936-45.
28. Nendaz M, Spirk D, Kucher N, Aujesky D, Hayoz D, Beer JH et al. Multicentre validation of the Geneva Risk Score for hospitalised medical patients at risk of venous thromboembolism. Explicit ASsessment of Thromboembolic RIsk and Prophylaxis for Medical

- PATients in SwitzErland (ESTIMATE). *Thromb Haemost.* 2014 Mar;111(3):531-8.
29. Amin A, Spyropoulos AC, Dobesh P, Shorr A, Hussein M, Mozaffari E et al. Are hospitals delivering appropriate VTE prevention? The venous thromboembolism study to assess the rate of thromboprophylaxis (VTE start). *J Thromb Thrombolysis.* 2010 Abr;29(3):326-39.
  30. Decousus H, Tapson VF, Bergmann J-F, Chong BH, Froehlich JB, Kakkar AK et al. Factors at admission associated with bleeding risk in medical patients: findings from the IMPROVE investigators. *Chest.* 2011 Ene;139(1):69-79.
  31. Rosenberg DJ, Press A, Fishbein J, Lesser M, McCullagh L, McGinn T et al. External validation of the IMPROVE Bleeding Risk Assessment Model in medical patients. *Thromb Haemost.* 2016 30;116(3):530-6.
  32. Weitz JI, Fredenburgh JC et Eikelboom JW. A Test in Context: D-Dimer. *Journal of the American College of Cardiology.* 2017;70(19):2411-2420.
  33. Favresse J, Lippi G, Roy P-M, Chatelain B, Jacqmin H, ten Cate H et Mullier F. D-dimer: Preanalytical, analytical, postanalytical variables, and clinical applications. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences.* 2018;55(8):548-577.
  34. Legnani C, Palareti G, Cosmi B, Cini M, Tosetto A et Tripodi A. Different cut-off values of quantitative D-dimer methods to predict the risk of venous thromboembolism recurrence: a post-hoc analysis of the PROLONG study. *Haematologica.* 2008;93(6):900-907.
  35. Verhovsek M, Douketis JD, Yi Q, Shrivastava S, Tait RC, Baglin T et Lim W. Systematic Review: d-Dimer to Predict Recurrent Disease after Stopping Anticoagulant Therapy for Unprovoked Venous Thromboembolism. *Annals of Internal Medicine.* 2008 149(7):481.
  36. Nagler M, ten Cate H, Prins MH et ten Cate-Hoek AJ. Risk factors for recurrence in deep vein thrombosis patients following a tailored anticoagulant treatment incorporating residual vein obstruction. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis.* 2018;2(2):299-309.
  37. Ageno W, Squizzato A, Wells PS, Büller HR et Johnson G. The diagnosis of symptomatic recurrent pulmonary embolism and deep vein thrombosis: guidance from the SSC of the ISTH. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 2013;11(8):1597-1602
  38. Baglin T, Luddington R, Brown K et Baglin C. Incidence of recurrent venous thromboembolism in relation to clinical and thrombophilic risk factors: prospective cohort study. *The Lancet.* 2003;362(9383):523-526.



**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.

# Inmunofijación: más allá de la tipificación de gammapatías monoclonales. Valor pronóstico, categorización de respuesta al tratamiento e importancia en la detección de interferencias por el uso de anticuerpos monoclonales terapéuticos y en pacientes con enfermedad COVID-19



ARTÍCULO  
DE REVISIÓN

HEMATOLOGÍA  
Volumen 26 n° 2: 63-73  
Mayo - Agosto 2022

Immunofixation: beyond the typification of monoclonal gammopathies. Prognostic value, categorization of responses to treatments and importance in the detection of interferences by the use of therapeutic monoclonal antibodies and in patients with COVID-19 disease

Alejandro, M.E.

*Laboratorio de Proteínas del Hospital de Clínicas José de San Martín. Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires. Laboratorio de Análisis Proteicos Especializados. Centro de Hematología Pavlovsky.*

marielalejandre@hotmail.com

Fecha recepción: 17/7/2022  
Fecha aprobación: 8/9/2022

**Palabras claves:** inmunofijación, gammapatías monoclonales, bandas oligoclonales, interferencias por daratumumab.

**Keywords:** immunofixation, monoclonal gammopathies, oligoclonal bands, interference by daratumumab.

## Resumen

La presencia en suero, o al menos en orina, de un componente monoclonal (CM) o sus subunidades, las cadenas livianas, como producto de la proliferación clonal de linfocitos B o células plasmáticas, caracteriza un amplio grupo de gammapatías monoclonales (GM). La principal aplicación de la inmunofijación (IFx) es la identificación inmunológica del CM en suero y orina para establecer el diagnóstico de las mismas. Además, dicho resultado tiene valor pronóstico para algunas de las GM. La IFx también permite establecer los diversos grados de

respuesta al tratamiento alcanzado por los pacientes y determinar la reaparición del CM, marcando la caída de la enfermedad.

La IFx consiste en precipitar la proteína de interés en el gel mediante la adición de antisuero monoespecífico, al finalizar el fraccionamiento electroforético de las muestras de suero u orina, sembradas en soporte de agarosa o acetato de celulosa gelatinizado. Los lavados posteriores deben ser exhaustivos para evitar visualizaciones inespecíficas. Finalmente se revela con azul brillante de Coomassie R 250 o tinción ultrasensible de plata u oro coloidal.

La aparición en suero de bandas oligoclonales durante el seguimiento de pacientes con mieloma múltiple (MM) post trasplante autólogo de células madres (TAMO) generó dificultad para evaluar el CM original. Su aparición, certificada por IFx se asoció con la ocurrencia de efectos adversos menos frecuentes a la terapia aplicada y mayores tiempos de sobrevida global y libre de enfermedad en los pacientes.

Más recientemente, los anticuerpos monoclonales terapéuticos para el tratamiento del MM también complican la evaluación de su CM. Aparecen en el proteinograma (PROT) a dosis terapéuticas y son de tipo IgG-kappa en la IFx. Dicha interferencia puede indicar falsamente un grado de respuesta deficiente a la terapia, sobre todo en aquellos casos en que el CM original es del mismo tipo inmunológico y tiene igual movilidad electroforética que el anticuerpo terapéutico.

En el seguimiento de pacientes con enfermedad COVID-19 pudo observarse la aparición de bandas homogéneas en el PROT, interfiriendo en la evaluación del CM para aquellos pacientes con diagnóstico previo de GM.

Por todo lo expuesto resulta aconsejable realizar el seguimiento de los pacientes en un mismo laboratorio de análisis clínicos, dada la necesidad de sumar al correcto procesamiento técnico de la IFx el conocimiento de los datos de la historia analítica y clínica. Esto favorece la adecuada interpretación y redacción del informe, a la vez que permite discernir en cuál de las diversas situaciones antes mencionadas se encuentran nuestros pacientes.

### Abstract

The presence in serum or at least in urine of a monoclonal component (MC) or its light chain subunits, as a product of clonal proliferation of B lymphocytes or plasma cells, characterizes a large group of monoclonal gammopathies (MG). The main application of immunofixation (IFx) is the immunological identification of MC in serum and urine to establish their diagnosis. In addition, this result has prognostic value for some of the MG. IFx also makes it possible to establish the various degrees of response to treatment achieved by patients, and to determine the reappearance of MC, marking the relapse of the disease.

IFx consists of precipitating the protein of interest in the gel by adding monospecific antiserum at the

end of the electrophoretic fractionation of the serum or urine samples, seeded on agarose or gelatinized cellulose acetate support. Subsequent washes must be exhaustive to avoid nonspecific visualization. Finally, it is revealed with Coomassie Brilliant Blue R 250 or ultrasensitive colloidal silver or gold stain.

The appearance of oligoclonal bands in serum during the follow-up of patients with multiple myeloma (MM), after autologous stem cell transplantation (ASCT), generated difficulty in evaluating the original MC. Its appearance, certified by IFx, was associated with the occurrence of fewer adverse effects to the applied therapy, and longer overall disease-free survival in patients.

More recently, therapeutic monoclonal antibodies for the treatment of MM also complicate the evaluation of its MC. They appear in the proteinogram (PROT) at therapeutic doses and of type IgG-kappa by IFx.

Such interference may falsely indicate a poor response to therapy, especially in those cases where the original MC is of the same immunological type and has the same electrophoretic mobility as the therapeutic antibody.

In the follow-up of patients with COVID-19 disease, the appearance of homogeneous bands in the PROT could be observed, interfering in the evaluation of their MC for those patients with a previous diagnosis of MG.

For all the above, it is advisable to follow up patients in the same clinical analysis laboratory, given the need to add to the correct technical processing of the IFx, the knowledge of the analytical and clinical history data. This favors the proper interpretation and writing of the report, while it allows us to discern in which of the various situations mentioned above our patients are included.

### Introducción

La presencia en suero, o al menos en orina, de una inmunoglobulina monoclonal, llamada componente monoclonal (CM) o paraproteína, o de sus subunidades, las cadenas livianas, como producto de la proliferación clonal de linfocitos B o células plasmáticas caracteriza un amplio grupo de gammopatías monoclonales (GM) con impacto clínico muy heterogéneo. Las mismas comprenden desde las mencionadas gammopatías monoclonales de significado incierto (GMSI), completamente asintomáticas

y que no requieren intervención hasta el mieloma múltiple (MM) agresivo con necesidad de tratamiento inmediato<sup>(1)</sup>.

El CM se visualiza en el proteinograma electroforético (PROT) como la aparición de una banda homogénea que puede migrar desde la fracción de las  $\alpha$ 2-globulinas hasta el punto de siembra, originando un pico en la densitometría electroforética posible de cuantificar. Posteriormente, la identificación inmunológica de dicha paraproteína es efectuada por la técnica de inmunofijación (IFx).

En los primeros años del siglo XXI se sumó a estos análisis proteicos especializados el ensayo de cuantificación de las cadenas livianas libres en suero (sFLC)<sup>(2)</sup>. La combinación de dicha técnica con el PROT y la IFx en suero y en orina aumenta la sensibilidad y constituye el panel de cribado para el diagnóstico de GM<sup>(3)</sup>.

La detección, caracterización y medición de los CM ayuda en el diagnóstico inicial de estos desórdenes a la vez que permite realizar la estratificación del riesgo de progresión de pacientes con GMSI o MM indolente o asintomático a MM u otra GM maligna relacionada<sup>(4-6)</sup>. Por ejemplo, el isotipo del CM caracterizado por IFx influye en el riesgo de progresión de una GMSI, ya que se observó que individuos con CM de tipo no IgG presentan una mayor probabilidad de progresión a MM que los del tipo IgG. A su vez, dicho panel de cribado permite detectar pacientes asintomáticos con alto riesgo de progresión, que podrían beneficiarse de recibir tratamientos tempranos<sup>(7)</sup>.

Por lo tanto, la inspección visual rigurosa del PROT junto a la realización posterior de la IFx y el estudio proteico en orina, especialmente cuando persiste la sospecha clínica y no hay una clara visualización del CM en la corrida electroforética, resultan imprescindibles para su pesquisa<sup>(8)</sup>.

Finalmente, disponer de la información del isotipo de la paraproteína por IFx y la posición en que migra dicho CM en el PROT, es necesario cuando se hace un seguimiento de los diversos grados respuesta al tratamiento alcanzados por los pacientes y para poder determinar si, de haber una recaída, ésta se produce con el mismo clon o una proteína monoclonal de isotipo diferente (factor de mal pronóstico)<sup>(9)</sup>.

### Ensayo de inmunofijación

Mientras que la electroforesis de proteínas puede detectar patrones de bandas que permiten sospechar

una GM, para poder identificar que la aparición de dicha banda homogénea en el PROT sea un CM, es necesario combinar esta técnica electroforética con métodos inmunoquímicos<sup>(10)</sup>.

La IFx es una técnica altamente aconsejable para identificar bandas mono y oligoclonales. La proteína de interés es precipitada en el soporte mediante su antisuero monoespecífico luego del fraccionamiento electroforético de la muestra. Existen diferentes maneras de dispensar el antisuero diluido. En los soportes de acetato de celulosa gelatinizado, mediante dispensadores especiales y en los geles de agarosa, aplicando sobre la superficie del gel una plantilla con espacios para el agregado de los antisueros sobre las proteínas fraccionadas. En ambos soportes es posible agregarlos también mediante una tira de papel de filtro o acetato de celulosa saturados con la dilución adecuada de antisuero<sup>(11)</sup>.

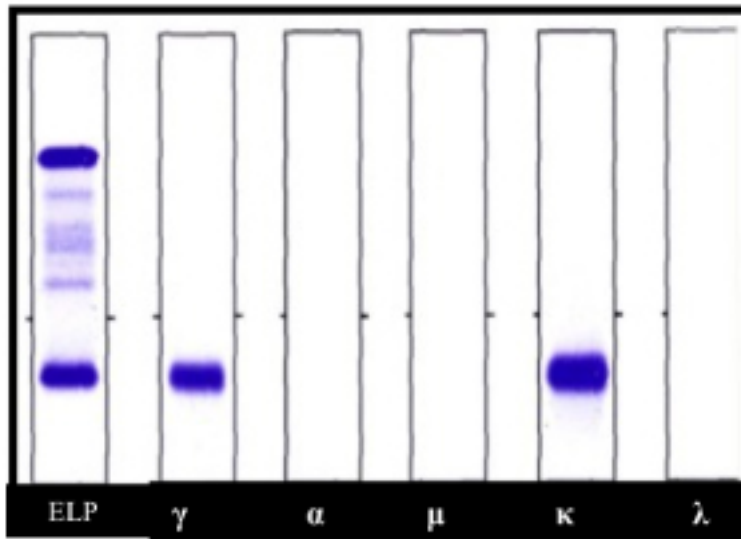
La proteína monoclonal identificada en la IFx debe tener la misma movilidad electroforética que presenta en la electroforesis de proteínas (Figura 2). Cuando se detectan dos o más bandas pequeñas en una región, se asocia con un perfil oligoclonal característico de cuadros infecciosos, patologías autoinmunes o enfermedades linfoproliferativas<sup>(10)</sup>.

Si los antisueros utilizados no identifican una banda vista en la corrida electroforética de la muestra largada en paralelo, que se utiliza como control de comparación de bandas de corrida, se deben considerar pasos adicionales, como la dilución del antisuero (abordando la posibilidad de tener Ag en exceso) o el uso de antisueros contra otras proteínas<sup>(10)</sup>. Otras veces se realiza el pre-tratamiento de la muestra con 2-mercaptoetanol (2ME) durante 30 minutos, para exponer epitopes antigénicos no detectados en el análisis de las moléculas en su estado conformacional nativo, lo que favorece la identificación de ciertos CM con epitopes ocultos<sup>(10,11)</sup>.

Existen métodos automatizados aplicables a geles de agarosa que disminuyen los errores operativos. La reacción necesita entre 5 y 45 minutos para completarse. Posteriormente los soportes son lavados en *buffer* fosfato salino con pH entre 7 y 7,5 para eliminar toda la proteína no precipitada<sup>(11)</sup>.

El antisuero se encuentra en contacto directo con las bandas de proteínas fraccionadas electroforéticamente, previniendo así la difusión de las mismas en el soporte. De este modo presenta como ventaja sobre la inmunolectroforesis una mejor resolución de

**Figura 1.** Ejemplo de la visualización de la técnica de inmunofijación en gel de agarosa y equipo automatizado. a) Inmunofijación de un paciente que presenta una banda homogénea en el proteinograma electroforético observado en la calle control (ELP), que resulta ser un componente monoclonal de tipo IgG-kappa por reaccionar frente a los antisuero anti cadenas pesadas  $\gamma$  y anti cadenas livianas  $\kappa$  de las inmunoglobulinas.



las bandas de interés y comparables fácilmente con el PROT de referencia. Esta característica la hace más sensible para detectar CM de pequeña concentración asociados a normo o hipergammaglobulinemia policlonal e inmunoglobulinas oligoclonales o biclonales de la misma clase, cercanas entre sí<sup>(11)</sup>.

Sin embargo, la falta de difusión la hacen más susceptible que la inmunolectroforesis a las condiciones de exceso de antígeno. Efectivamente, debe realizarse una dilución de la muestra, adecuada a la concentración de proteína a identificar, en función del título de antisuero utilizado. Una situación de exceso de antígeno produce la redisolución del inmunocomplejo, con el consecuente resultado falso negativo<sup>(11)</sup>.

La redisolución de bandas monoclonales en la IFx por efecto de prozona ha sucedido, inclusive, respetando las diluciones de muestras recomendadas por el fabricante. El agregado de polietilenglicol al antisuero puede aumentar la sensibilidad del método. El tratamiento previo de la muestra con agentes reductores puede favorecer la detección de pequeños CM complejados con inmunoglobulinas autólogas, que pasan desapercibidos en el PROT y la inmunolectroforesis<sup>(12)</sup>.

Desde el punto de vista de las buenas prácticas debe tenerse en cuenta que, por tratarse de un fraccionamiento electroforético, se respetarán las mismas consideraciones que para el PROT en fase sólida. Por

estar basado en el equilibrio entre antígeno y anticuerpo es sumamente importante verificar el título de los antisueros previamente a su incorporación en la rutina del laboratorio<sup>(11)</sup>. Un título de antisuero inferior al declarado puede ocasionar una redisolución del analito en la IFx. No todos los fabricantes informan la fuente y característica del antígeno utilizado en la inoculación. En el caso de los antisueros utilizados en la IFx con anti-kappa y anti-lambda en orina, la diferencia de reactividad entre marcas comerciales hace necesario utilizar varias de ellas para identificar una PBJ. Más grave es la situación de los antisueros para detectar cadenas livianas libres<sup>(15)</sup>.

Por la misma razón, esta técnica requiere estimar previamente la concentración de la proteína a identificar. En el caso de que sea extremadamente elevada, la muestra deberá diluirse.

En condiciones generales, la concentración de trabajo para identificar un CM debe oscilar entre 0.25 y 1 g/dL para obtener una precipitación adecuada con los antisueros comerciales más comúnmente utilizados. La concentración de trabajo óptima del antígeno depende del título de cada antisuero.

Cuando la IFx no se realiza mediante sumersión del soporte en el antisuero, debe asegurarse que se realice en una cámara húmeda para evitar que se sequen los geles. Los lavados posteriores a la fijación deben ser exhaustivos para evitar que la coloración inespecífica

del soporte dificulte la visualización de las bandas<sup>(11)</sup>.

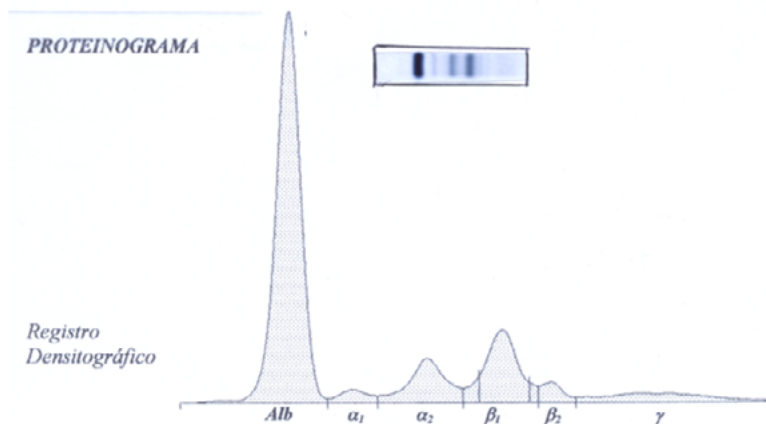
Por último, se revela con azul brillante de Coomassie R 250 o por tinción con plata u oro coloidal. Los metales pesados incrementan la sensibilidad del método, haciéndola apropiada para su uso en orina y líquido cefalorraquídeo sin necesidad de concentración previa de las muestras<sup>(13)</sup>. La IFx coloreada con plata u oro coloidal tiene un límite de detección estimada entre 0,6 y 1 mg/L para la proteína de Bence Jones (PBJ). Cinco a diez veces más sensible que el PROT con la misma tinción<sup>(14)</sup>. En la IFx realizada en forma manual utilizando geles de acetato de celulosa deben observarse los resultados obtenidos, previamente al transparentado del gel.

### Utilidad y alcance de los resultados

La principal aplicación de la IFx es la identificación de los CM en suero y orina. La monoclonalidad, vista como una banda homogénea en la IFx, es la característica de una GM.

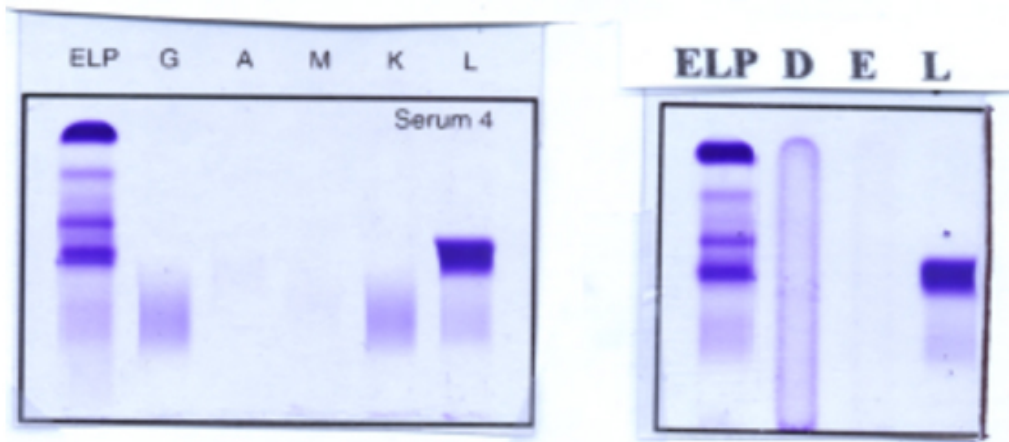
La identificación correcta de la cadena liviana y pesada de un CM puede evitar errores de interpretación de un resultado. Pacientes con MM a cadenas livianas, llamado también MM micromolecular, sólo excretan PBJ en orina. Si la función renal está disminuida y la concentración del CM es elevada, puede ser vista también en suero, confundiendo con una inmunoglobulina entera y conduciendo a conclusiones erróneas (Figura 2).

**Figura 2.** Paciente con diagnóstico de MM a cadenas livianas de tipo lambda y 60% de infiltración de células plasmáticas en médula ósea. **a)** Proteinograma sérico en gel de agarosa y equipo automatizado. El paciente presenta una banda homogénea en el proteinograma en la fracción de las betaglobulinas.



**b)** Proteinograma del suero del paciente en gel de agarosa y equipo automatizado, y de la orina de 24 horas de recolección sin concentración previa, en gel de acetato de celulosa manual y tinción ultrasensible de plata coloidal, largados en simultáneo. En el proteinograma de la orina se ve una banda homogénea, también en la fracción betaglobulinas, posible PBJ.

c) Inmunofijación del suero del paciente en gel de agarosa y equipo automatizado. Se ensayan los antisueros frente a las 5 clases de cadenas pesadas y los 2 tipos de cadenas livianas de las inmunoglobulinas, certificando que la banda del suero es el reflejo sérico de la PBJ.



De la misma manera, una inmunoglobulina monoclonal entera puede tener una concentración tan elevada que satura el glomérulo y el túbulo renal, excretándose por orina. Una mala interpretación de este cuadro puede llevar a concluir la presencia de una PBJ, cuando en realidad no lo es. Cabe mencionar que todo MM o GMSI tiene peor pronóstico si presenta PBJ<sup>(16)</sup>.

Nuestro grupo de trabajo (en concordancia con otros autores) ha observado durante el seguimiento de pacientes con MM tratados con altas dosis de quimioterapia seguido de trasplante de autólogo de células madres (TAMO), la aparición en suero de bandas oligoclonales (BO) post-TAMO. El 16.4% (50/305) de los pacientes presentaron durante su seguimiento múltiples componentes homogéneos de baja concentración que, tipificados por IFx, podían diferir en el isotipo de la cadena pesada, en la cadena liviana y en la movilidad electroforética del CM original. Esto se visualizó en el PROT a los 6,6 meses post-TAMO en promedio (1-81 meses) y con una duración promedio de 9,8 meses (1-36). Se pudo observar que los 50 pacientes presentaron recuperación de las inmunoglobulinas policlonales, con cifras normales o incluso ligeramente aumentadas, coincidentemente con la aparición de dichas BO de baja concentración. Posteriormente, al desaparecer las mismas, se mantuvieron las inmunoglobulinas policlonales dentro del rango normal, en varios pacientes con ausencia del CM original confirmado por IFx y en otros con vestigios del mismo.

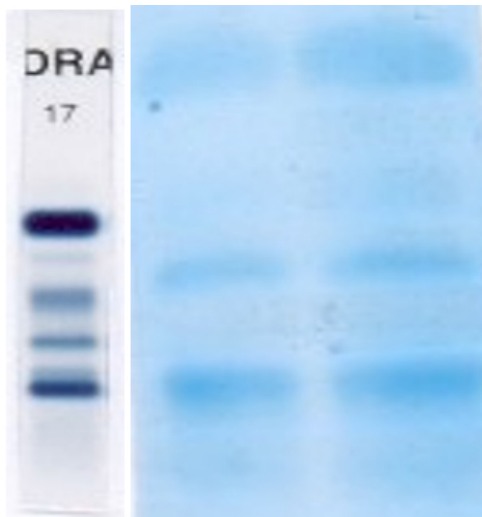
Aunque la aparición de BO en el suero de los pacientes generó una dificultad adicional a la hora

de realizar la interpretación cuali/cuantitativa del CM original, su presencia se correlacionó con efectos adversos menos frecuentes de la terapia aplicada y mayores tiempos de supervivencia global y libre de enfermedad de los pacientes<sup>(17,18)</sup> (Figura 3).

Debido a la importancia que tiene la variación de la concentración del CM en la evaluación de la respuesta terapéutica y por otra parte, la importancia de la detección de las BO dado su valor pronóstico favorable luego del trasplante, resulta imprescindible realizar IFx conjuntamente con el PROT en el seguimiento de dichos pacientes.

A su vez, se ha observado que aquellos pacientes con BO y zona gammaglobulina elevada en el PROT arrojan resultados de relación anormal de la sFLC, a favor de la cadena liviana libre kappa vs una relación normal, en los pacientes con valores de zona gammaglobulina normal, con diferencia estadísticamente significativa. En estos casos vuelve a considerarse fundamental la realización de la IFx para certificar la presencia de BO y la remisión completa (RC) (ausencia del CM por IFx) alcanzada o no, post-TAMO. A su vez, se demuestra una limitación en la prueba de sFLC en la evaluación de la RC estricta para estos pacientes con MM, TAMO y RC, si presentan BO en suero<sup>(18,19)</sup>.

Más recientemente, con el advenimiento de los anticuerpos monoclonales terapéuticos para el tratamiento de pacientes con MM, es posible observar en el suero de los mismos una interferencia con las dosis habituales utilizadas, que resulta en la aparición de una proteína monoclonal visible y cuantificable en el PROT y una banda monoclonal de tipo IgG-kappa caracterizada por IFx (Figura 4).



**Figura 3.** Paciente con diagnóstico de MM, que recibe como tratamiento un TAMO.

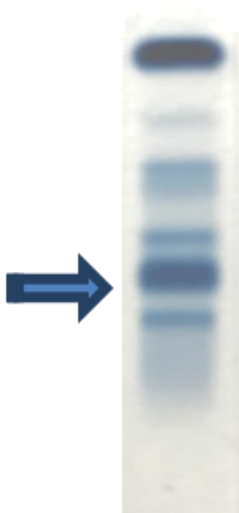
**a)** Proteinograma del suero del paciente en gel de agarosa y equipo automatizado, y de la orina de 24 horas de recolección sin concentración previa, en gel de acetato de celulosa manual y tinción ultrasensible de plata coloidal. Proteinograma sérico donde se observa la presencia de un componente monoclonal en la zona rápida de las gammaglobulinas, que se caracterizó por inmunofijación como de tipo IgG-kappa. El proteinograma de orina muestra una proteinuria de tipo “mielomatosa” con compromiso glomerular de alta selectividad.

**b)** Proteinograma e inmunofijación realizadas en gel de agarosa y equipo automatizado. Proteinograma sérico del paciente a los 5 meses post-TAMO donde se observa la aparición de bandas oligoclonales, caracterizadas por inmunofijación como 2 IgG-K, 1 IgM-L y 1 IgG-L. Puede observarse que el paciente logra una muy buena remisión parcial al tratamiento, al visualizarse su componente “M” original sólo por inmunofijación, con aparente ausencia en el proteinograma sérico.

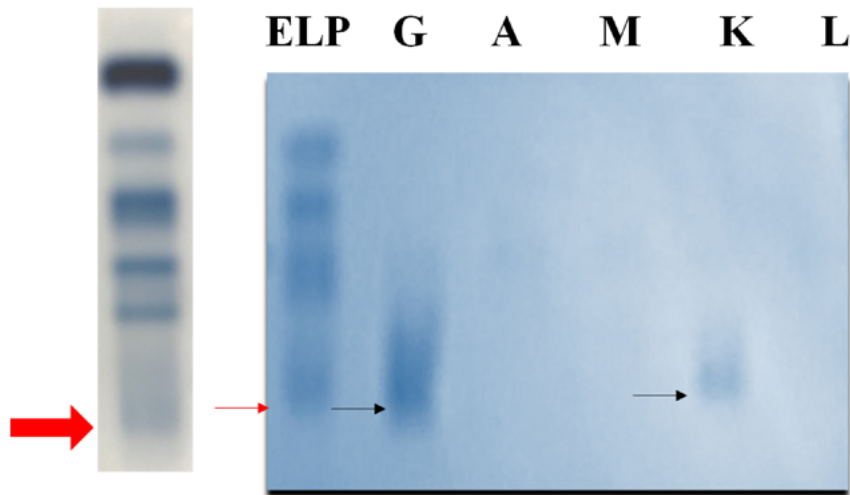


**Figura 4.** Paciente con diagnóstico de MM de tipo IgA-kappa en recaída y rescate con daratumumab.

**a)** Proteinograma del suero del paciente en gel de agarosa y equipo automatizado, donde se observa la presencia del componente monoclonal en la fracción beta-2 globulinas, que se caracterizó por inmunofijación como de tipo IgA-kappa, mostrando la recaída del MM.



b) Proteinograma del suero del paciente en gel de agarosa y equipo automatizado. Fijación en acetato de celulosa gelatinizado manual cuando comienza tratamiento con daratumumab/dexametasona. Se observa en el proteinograma sérico una nueva banda homogénea en el sector lento de la zona de las gammaglobulinas. Al realizar la inmunofijación se identifica como de tipo IgG-kappa y ausencia del componente monoclonal original IgA-kappa en beta. El paciente alcanza la remisión completa de la enfermedad y se observa la interferencia del anticuerpo monoclonal terapéutico daratumumab, debido a la banda de precipitación de tipo monoclonal frente a anti IgG-kappa correspondiente.



La relevancia de dicha interferencia es que tiene el potencial de indicar falsamente un grado de respuesta deficiente a la terapia, sobre todo en aquellos casos en que el CM original es del mismo tipo inmunológico (IgG-kappa) y tiene igual movilidad electroforética en el PROT que el anticuerpo terapéutico<sup>(20)</sup>. La posibilidad de superponer, en PROT realizados por electroforesis capilar, los perfiles del paciente en ingresos anteriores a comenzar el tratamiento, sobre los nuevos controles, nos permiten comparar movilidades e identidades y descartar la interferencia.

Dado los criterios de grupo de trabajo internacional sobre el MM (IMWG) para evaluar la calidad de respuesta al tratamiento aplicado resulta fundamental que la banda monoclonal proporcionada por el anticuerpo terapéutico no se confunda con el CM original del paciente. Aunque la interferencia no se circunscribe exclusivamente al daratumumab (anticuerpo monoclonal anti-CD38 IgG1- $\kappa$ ), ya que también se observa en tratamientos con elotuzumab e isatuximab, se ha desarrollado un ensayo de IFx específico para anularla, llamado DIRA, pero el mismo no se encuentra disponible en nuestro país<sup>(21)</sup>.

En nuestra experiencia llevamos realizado el seguimiento de 89 pacientes tratados con daratumumab, 3 con elotuzumab y 3 con isatuximab, de allí

la importancia de que el bioquímico esté informado respecto del tratamiento que reciben sus pacientes y sea consciente de que la presencia de una nueva banda con movilidad de migración en la región de las gammaglobulinas, de 0,10 gr/dL de concentración aproximada en el PROT y tipificada como IgG-kappa por IFx puede derivar del tratamiento con anticuerpos terapéuticos y así expresarlo en los informes de laboratorio entregados.

Más recientemente se comenzó a estudiar el uso de la técnica de espectrometría de masa (EM) para la detección e identificación de las GM. Como cuestiones negativas para su accesibilidad en los laboratorios de análisis clínicos podríamos citar su alto costo, que viene dado por la necesidad de contar con el equipamiento necesario y realizar, previo al análisis, una purificación de las cadenas pesadas y livianas de las inmunoglobulinas en las muestras. La misma consiste en cinco incubaciones del suero del paciente con micropartículas magnéticas recubiertas de anticuerpos anti-IgG, anti-IgA, anti-IgM, anti-kappa y anti-lambda (a las que pueden adicionarse dos incubaciones más, con anti-kappa libre y anti-lambda libre, para obtener mayor sensibilidad), los posteriores lavados y la re-suspensión de los purificados.

Se suma como dificultad la necesidad de contar

con el procesamiento de la muestra al momento del diagnóstico, para poder conocer el número de masa específico del CM del paciente y así poder evaluar en controles posteriores la presencia o no del mismo en el espectro y establecer la respuesta terapéutica alcanzada.

Por otro lado, cabe mencionar que la automatización de los procesos es total y la sofisticación del programa informático del equipo permite la interpretación objetiva de los resultados. En cuanto a su utilidad clínica, hay estudios que revelan que la posibilidad de detectar la glicosilación de las cadenas livianas del CM en pacientes con GMSI mediante EM, permite aportar un potente factor de riesgo de progresión a amiloidosis, MM u otra discrasia de células plasmáticas<sup>(22)</sup>.

Está en estudio continuo la mayor sensibilidad de la EM y su posible aporte, en comparación con la IFx y la CF, para determinar la calidad de la respuesta al tratamiento alcanzada por los pacientes y, con ello, la posterior toma de decisión médica. En este sentido hay estudios que demuestran que el valor predictivo negativo de la EM respecto de la enfermedad mínima residual (EMR) por CF en pacientes con MM después del TAMO y al final de la consolidación se acerca al 90%, con una sensibilidad también del 90%. Esto significa que el 90% de los pacientes que eran negativos por EM también lo eran para EMR por CF. Pero, según los autores, el 10% de los pacientes que tenían un CM en la EM, con resultados de EMR negativa por CF, podrían ser o bien falsos negativos debido a la distribución parcheada del MM en médula ósea, o deberse a la presencia de enfermedad extramedular, que impide su identificación en médula<sup>(23)</sup>.

Finalmente, el estudio de EM permite diferenciar la presencia de los anticuerpos monoclonales terapéuticos del CM original del paciente, ya que presentan un número de masa diferente y se ubican, por lo tanto, en otro lugar del espectro.

La pandemia de COVID-19 tampoco pasó desapercibida respecto de la aparición de interferencias de bandas homogéneas en el PROT, especialmente relevantes en pacientes con diagnóstico previo de GM. Así, es posible mencionar, como parte de nuestra experiencia, el ejemplo de un paciente de 57 años y diagnóstico de MM de tipo IgG-kappa. El mismo fue tratado con TAMO, logrando RC en abril de 2021. En su control de agosto del mismo

año presentó una banda homogénea de 0,70 gr/dL en la zona gamma del PROT, en un lugar de movilidad diferente que su CM original. La misma fue caracterizada como de tipo IgG-lambda por IFx, permaneciendo el paciente en RC de su MM dada la ausencia de su CM IgG-kappa. Podemos inferir que este hallazgo se trató de una interferencia, por estar cursando la enfermedad COVID-19 de reciente diagnóstico, ya que en la actualidad se encuentra sin mayores complicaciones, sin la interferencia en el PROT y continúa en RC de su MM por IFx.

### Reflexiones finales

A la luz de lo antes desarrollado, antes de informar los resultados de la IFx en los diversos líquidos biológicos de los pacientes estudiados, es indispensable evaluarlos clínica y metrológicamente para asegurar la coherencia con informes previos, el diagnóstico presuntivo y su historia clínica.

Una vez que se haya validado la serie analítica mediante los resultados del esquema de control interno y del informe de errores emitidos por el instrumental o reportado por el personal, se procede a la validación bioquímica y clínica. También es conveniente un seguimiento estadístico de la proporción de resultados anormales<sup>(11)</sup>.

La validación bioquímica implica conocer el comportamiento de los analitos en forma individual y en conjunto con otros, asociados en un perfil de laboratorio, y así emitir un informe completo y complementario de todas las pruebas. Por ejemplo, el estudio de las GM implica un perfil que suele incluir el PROT, la cuantificación de inmunoglobulinas IgM, IgA e IgG, IFx, cuantificación de  $\beta 2$  microglobulina y sFLC en suero.

Finalmente, la validación clínica del resultado obtenido implica la coherencia de los mismos en función de la historia clínica, debiendo ser compatibles con el estado del paciente, su historia analítica previa y/o el tratamiento al que está siendo sometido. De ahí que es aconsejable realizar los seguimientos de los pacientes en un mismo laboratorio de análisis clínicos.

Por lo antes mencionado, queda claro que a la correcta realización analítica de la IFx se suma la necesidad de contar para su interpretación con los datos del paciente. Esto será lo que permita discernir si los resultados emitidos tienen valor diagnóstico, valor pronóstico, si estamos en momentos de evaluar

RC de la enfermedad ante una terapia recibida o si estamos frente a la ocurrencia de una recaída bioquímica de la enfermedad. Además, podemos estar advirtiendo respecto de la presencia de BO en pacientes con MM (parámetro de buen pronóstico tar-

dío post-TAMO) o detectando interferencias, sean éstas producidas por anticuerpos monoclonales terapéuticos o las observadas en épocas de la pandemia por COVID-19.

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

### Bibliografía

1. Keren DF, Bocsi, G, Billman BL et al. Laboratory Detection and Initial Diagnosis of Monoclonal Gammopathies Guideline From the College of American Pathologists in Collaboration With the American Association for Clinical Chemistry and the American Society for Clinical Pathology. *Arch Pathol Lab Med.* 2022;146:575-590.
2. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP et al. Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin Chem.* 2001;47(4):673-680.
3. Oliveros Conejero, R, Pascual Usandizaga, P, Garrido Chércoles, A. Optimización de flujos de trabajo y paneles de cribado para la detección de gammopatías monoclonales malignas. *Adv Lab Med/Av Med Lab.* 2020;1:2019-0028.
4. Kyle RA, Larson DR, Therneau TM et al. Long-term follow-up of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med.* 2018;378(3):241-249.
5. Sackmann F, Pavlovsky MA, Corrado C, Pizzolato M, Alexandre M, Pavlovsky S. Prognostic factors in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Haematologica.* 2008;93(1):153-154.
6. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014;15(12):e538-e548.
7. Hernandez MT, Giraldo P, De la Rubia J et al. Lenalidomide plus dexamethasone for high-risk smoldering multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2013;369(5):438-447.
8. Molina Garrido MJ, Guillén Ponce C, Guirado-Risueño M, Martínez y Sevilla C, Carrato Mena A. Diagnóstico diferencial de las gammopatías monoclonales. *Anales de Medicina Interna.* 2006;23(11):546-551.
9. Keren David F y Schroeder Lee. Challenges of measuring monoclonal proteins in serum. *Clin Chem Lab Med.* 2016;54(6):947-961.
10. Keren David F. Capítulo 2. Techniques for protein electrophoresis. *Protein Electrophoresis in Clinical Diagnosis.* Edward Arnold (Publishers) Ltd. (2003).
11. García M, Madalena L, Gasparini S, Bresciani P, Alexandre M, Facio ML. Módulo 2: Buenas prácticas en el Laboratorio de Proteínas. Proceso analítico. Métodos de fraccionamiento electroforético. El laboratorio de proteínas: conceptos sobre calidad analítica y buenas prácticas. Editorial Eudeba. 2017.143-168.
12. Bossuyt X, Bogaerts A, Schiettekatte G, Blanckaert N. Serum protein electrophoresis by CZE 2000 Serum protein electrophoresis and immunofixation by a semiautomated electrophoresis system. *Clin Chem.* 1998;44(5):944-9.
13. García M, Madalena L, Bragantini G y col. Electroinmunofijación de orinas sin concentrar por coloración con metales pesados. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 1996;30(3):215-20.
14. Whicher JT. Immunofixation on cellulose acetate is more efficient than immunoelectrophoresis for detection of paraproteins. *Clin Chem.* 1983;29(2):402-3.
15. Hutchison CA, Batuman V, Behrens J et al. The pathogenesis and diagnosis of acute kidney injury in multiple myeloma. *Nat Rev Nephrol.* 2011;8(1):43-51.
16. Alexandre M. Tesis doctoral Mieloma Múltiple y trasplante autólogo de médula ósea, Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto. Parámetros bioquímicos: factores de pronóstico, evolución y riesgo. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Argentina. 2011.
17. Alexandre ME, Madalena LB, Pavlovsky MA et al. Oligoclonal bands and immunoglobulin isotype switch during monitoring of patients with multiple myelo-

- ma and autologous hematopoietic cell transplantation: a 16-year experience. *Clin Chem Lab Med.* 2010;48(5):727-31.
18. Gurmukh S. Oligoclonal Pattern/Abnormal Protein Bands in Post-Treatment Plasma Cell Myeloma Patients: Implications for Protein Electrophoresis and Serum Free Light Chain Assay Results. *J Clin Med Res.* 2017 Aug;9(8):671-679.
19. Alejandro ME, Pavlovsky MA, Remaggi G et al. Serum free light chains and Oligoclonal Bands in patients with Multiple Myeloma and Autologous Bone Marrow Transplantation. *Clin Chem Lab Med.* 2012;50(6):1093-1097.
20. Murata K, McCash S, Carroll B et al. Treatment of multiple myeloma with monoclonal antibodies and the dilemma of false positive M-spikes in peripheral blood. *Clin Biochem.* 2018 Jan;51:66-71.
21. Van de Donk NVD, Otten H, El Haddad O et al. Interference of daratumumab in monitoring multiple myeloma patients using serum immunofixation electrophoresis can be abrogated using the daratumumab IFE reflex assay (DIRA). *Clin Chem Lab Med.* 2016 Jun 1;54(6):1105-9.
22. Dispenzieri A, Larson DR, Rajkumar SV et al. N-glycosylation of monoclonal light chains on routine MASS-FIX testing is a risk factor for MGUS progression. *Leukemia.* 2020 Oct;34(10):2749-2753.
23. Puig, ASCO 2020. TBS-MS to guide the optimal timing for BM MRD assessment?



**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.

# Foco neurológico en paciente pediátrico con leucemia linfoblástica aguda

Neurological symptoms in a pediatric patient with acute lymphoblastic leukemia

Eleno Beierbach AP<sup>1</sup>, Rodríguez M<sup>1</sup>, Cuello MF<sup>2</sup>, Ruiz C<sup>2</sup>, Franchi ME<sup>3</sup>, Moran LE<sup>1</sup>, Soria ME<sup>1</sup>, Ferraro CL<sup>1</sup>, Novas FN<sup>1</sup>, Prada S<sup>1</sup>, Schwalb G<sup>1</sup>, Basack N<sup>1</sup>, Drelichman G<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires, Argentina

<sup>2</sup> Hospital De Niños "Sor María Ludovica", La Plata, Argentina

<sup>3</sup> Hospital Universitario Austral, Buenos Aires, Argentina

pauyeleno89@gmail.com; leucemias.hnrg@gmail.com

Fecha recepción: 13/7/2022

Fecha aprobación: 19/8/2022

ATENEOS SAH - REUNIÓN MENSUAL INTERDISCIPLINARIA DE DISCUSIÓN DE CASOS



ATENEO

HEMATOLOGÍA

Volumen 26 n° 2: 74-80

Mayo - Agosto 2022

**Palabras claves:** leucemia, síndrome "símil ACV isquémico", pediatría, neurotoxicidad, metotrexate.

**Keywords:** leukemia, "stroke like" syndrome, pediatrics, neurotoxicity, methotrexate.

## Resumen

Se describe el caso de un paciente pediátrico con leucemia linfoblástica aguda T (LLA-T) que durante su tratamiento presenta síntomas neurológicos como efecto adverso asociado a la quimioterapia. Se discuten los posibles diagnósticos diferenciales, diagnóstico y conducta terapéutica a seguir.

## Abstract

We present a case of a pediatric patient with T-acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) who presented neurological symptoms as an adverse effect associated with chemotherapy. We discussed the possible differential diagnoses, diagnosis and therapeutic conduct to follow.

Paciente de sexo masculino, de 10 años de edad, sin antecedentes previos, que consulta por adenopatías cervicales bilaterales, sin respuesta al tratamiento

antibiótico vía oral. Posteriormente agrega dificultad respiratoria, motivo por el cual concurre a nuestra institución. A su ingreso se realiza laboratorio completo que evidencia leucocitosis (GB: 89.100/mm<sup>3</sup>) con 63% de blastos, hemoglobina y plaquetas normales. Tomografía (TAC) de cuello y tórax sin contraste en donde se visualiza una masa sólida, heterogénea a nivel del mediastino anterosuperior y adenomegalias cervicales bilaterales y mediastinales.

## Diagnóstico y estadificación:

Se realiza punción aspiración de médula ósea (PAMO), que evidencia infiltración del 96% por linfoblastos L1, ácido periódico de Schiff positivo granular fino y mieloperoxidasa negativa. Citometría de flujo: CD7 +/- (56%), CD5+, CD2+, CD3cit+, CD10+/- (80%), CD79a-, MPO-. Biología molecular: negativa. Citogenético: 46 XY [20].

Para completar estadificación, se realiza TAC de sistema nervioso central (SNC) y fondo de ojo dentro de parámetros normales. Punción lumbar (PL): cámara y citocentrifugado de LCR (CytoSpin) sin células patológicas.

El paciente inicia tratamiento según protocolo ALLIC-GATLA 2010. Presenta buena respuesta a la prednisona en el día 8 (413 blastos), enfermedad mínima residual (EMR) día 15 positiva (1.2%) y día 33 EMR negativa. Se asume paciente con LLA-T, status I de SNC, riesgo intermedio por edad, glóbulos blancos al diagnóstico y respuesta al día 15.

### Complicaciones durante el tratamiento:

Según protocolo recibe cuatro dosis de metotrexate (MTX) a 5 gr/m<sup>2</sup> en infusión continua de 24 horas acompañado de PL con MTX (12 mg) y dexametasona intratecal, con la correspondiente hiperhidratación, alcalinización y rescates con leucovorina. Las primeras tres infusiones no presentan complicaciones. Durante la cuarta presenta eliminación lenta del MTX, por lo que requiere dosajes hasta la hora 72 (Tabla 1), manteniendo tensión arterial y función renal normal.

Ocho días después de la infusión de la cuarta dosis de MTX, consulta en guardia por episodio de disartria de dos horas de evolución, sin otros síntomas acompañantes, afebril, normotenso, con recuperación *ad integrum* en las primeras 24 horas. Se realiza hemograma que evidencia leucopenia (GB 4.000/mm<sup>3</sup>), sin neutropenia y plaquetopenia (82.000/mm<sup>3</sup>). Laboratorio con reactantes de fase aguda, coagulograma, fibrinógeno, dímero D y PDF dentro de parámetros normales.

Se solicita resonancia magnética (RMN) de SNC con contraste. En la difusión se observa en sustancia blanca profunda de la circunvolución precentral izquierda, área bien circunscrita de restricción. El mapa ADC muestra la hipointeintensidad correspondiente. Dicho hallazgo carece de expresión en

FLAIR. Imágenes compatibles con edema citotóxico por evento isquémico (Figura 1). Se complementa estudio con angioRMN de vasos intracerebrales, cuyo resultado no está disponible en ese momento. Luego de una mejoría del cuadro clínico inicial, a las 24 horas evoluciona desfavorablemente con reagudización de la clínica, evidenciándose una parálisis central derecha, afasia de expresión y disartria. Se solicita TAC SNC que no evidencia focos de sangrado activo, ni cambios en la atenuación cerebral normal. Se realiza PL con citocentrifugado (CytoSpin), citoquímico y cultivos de LCR negativos.

Dado que presenta RMN de SNC que evidencia una lesión isquémica, TAC de SNC sin sangrado, angioRMN SNC cuyo informe aún no está disponible, se decide iniciar tratamiento con heparina de bajo peso molecular (HBPM) 110 UI/kg cada 12 horas y solicitar ecocardiograma y eco doppler de vasos de cuello a fin de descartar fuente embólica que pudiese estar asociada al cuadro.

### Discusión del caso. Diagnósticos diferenciales en paciente con foco neurológico recibiendo quimioterapia.

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es la neoplasia maligna más frecuente en pediatría. Con la estrategia de terapia adaptada al riesgo y la intensificación de poli quimioterapia sistémica e intratecal (IT), en las últimas dos décadas los países desarrollados logran sobrevividas mayores al 90%<sup>(1)</sup>. La intensificación de la terapia dirigida al SNC aumenta el riesgo de toxicidad<sup>(2)</sup>.

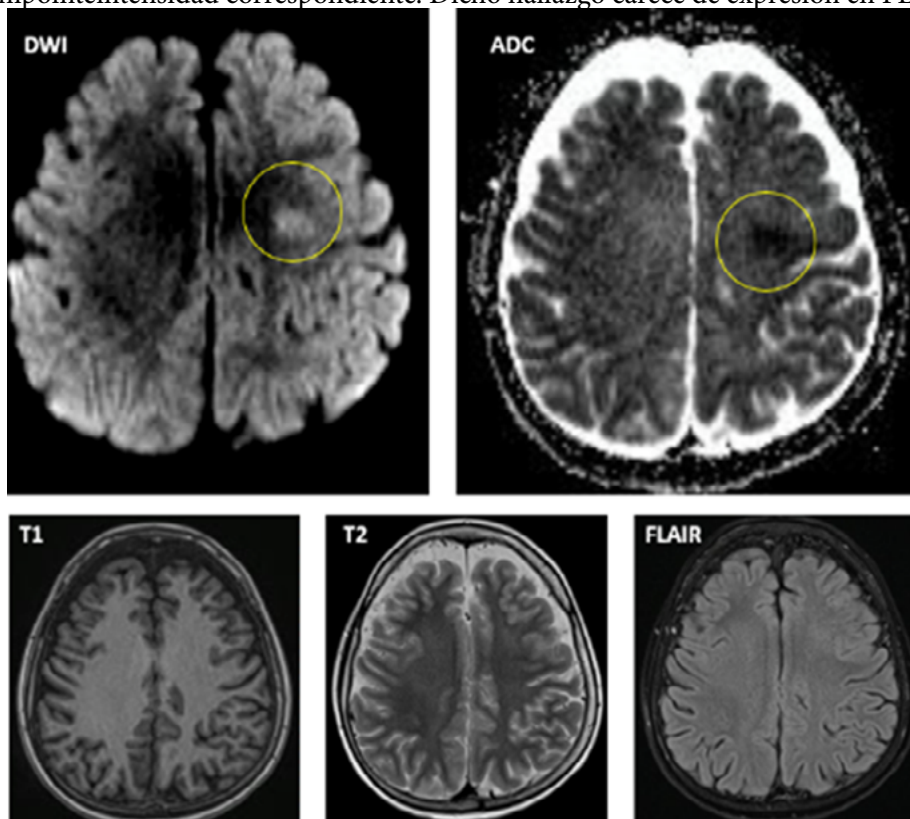
Las complicaciones neurológicas más comunes son: leucoencefalopatía posterior reversible (PRES), síndrome similar ACV isquémico (*"stroke like"*) asociado a MTX, trombosis de seno venoso y ACV isquémico/hemorrágico<sup>(3)</sup>.

La neurotoxicidad aguda y subaguda relacionada con el MTX es un efecto adverso bien documentado, a pesar de los rescates con leucovorina. Entre el

**Tabla 1.** Dosajes de MTX.

Hora	Nivel plasmático (umol/l)
Hora 24	13,19 umol/l
Hora 42	0,93 umol/l
Hora 48	0,7 umol/l
Hora 54	0,64 umol/l
Hora 72	0,25 umol/l

**Figura 1.** RMN de SNC con contraste: en la técnica de difusión se observa en sustancia blanca profunda de la circunvolución pre central izquierda un área bien circunscrita de restricción. El mapa ADC muestra la hipointeintensidad correspondiente. Dicho hallazgo carece de expresión en FLAIR.



3% y el 11% de los pacientes que reciben MTX desarrollan síntomas asociados a neurotoxicidad<sup>(4-6)</sup>, con presentación clínica variable. La mediana de tiempo desde el diagnóstico de LLA hasta el inicio de la neurotoxicidad es de 4 meses (rango 0 - 19 meses)<sup>(6)</sup> y típicamente ocurre entre 3 a 11 días posteriores a la administración sistémica o intratecal de MTX<sup>(7,8)</sup>.

### Leucoencefalopatía posterior reversible

La leucoencefalopatía posterior reversible (PRES) es un síndrome clínico-radiológico definido según los criterios de Ponte de Legno como la presencia de: cefalea transitoria, confusión, convulsiones y/o alteraciones visuales, asociados a alteraciones específicas en la RMN de SNC<sup>(9)</sup>.

Su incidencia en LLA pediátrica varía entre 1,6% y 4,5% y usualmente ocurre durante los primeros tres meses de tratamiento<sup>(10,11)</sup>. Si bien se han identificado múltiples factores de riesgo asociados al desarrollo de PRES, su fisiopatología aún es controvertida. Una teoría es que la hipertensión arterial altera la capacidad de los mecanismos autorreguladores de la

vasculatura cerebral, lo que conduce a la extravasación de líquido en el parénquima cerebral y genera edema vasogénico<sup>(12)</sup>.

Los síntomas neurológicos de PRES se pueden manifestar en forma aguda o subaguda. La presentación clínica típica incluye: déficit neurológico focal, déficit de la agudeza visual, signos y síntomas secundarios a la hipertensión endocraneal como cefalea, náuseas, vómitos o diplopía. Otras formas clínicas menos frecuentes son: hemiparesia, ataxia, temblor, dismetría y disdiadococinesia<sup>(13)</sup>.

Las convulsiones son la manifestación clínica más frecuente, seguida de la alteración del sensorio, cefalea y alteración visual, asociadas a hipertensión arterial<sup>(11,14-16)</sup>. Afecta típicamente la región parieto-occipital, aunque puede involucrar otras áreas, como el lóbulo frontal, temporal y fosa posterior<sup>(11,14,16)</sup>. La RMN SNC (imagen de elección) muestra hiperintensidad en T2 (edema vasogénico) afectando predominantemente la sustancia blanca. Eventualmente puede mostrar signos de restricción en la difusión, hemorragia intracraneal y vasoconstricción<sup>(17,18)</sup>.

### Síndrome símil ACV isquémico

El consenso de Ponte di Legno define al símil ACV isquémico asociado a MTX como un síndrome que incluye las siguientes características: **signos clínicos** de déficit neurológico (paresia o parálisis), afasia o disartria, alteración del sensorio y/o convulsiones (éstas últimas siempre acompañadas de al menos uno de los otros síntomas); **cambios característicos en la sustancia blanca en la RMN** y no tener otra causa que lo justifique<sup>(9)</sup>.

Dicha presentación debe ocurrir dentro de los 21 días posteriores a la administración intratecal o sistémica de MTX<sup>(9)</sup>. El curso clínico es fluctuante, con resolución completa del mismo en aproximadamente una semana<sup>(9,19)</sup>.

Si bien actualmente no hay una incidencia reportada, existen publicaciones de casos de neurotoxicidad que se presentan como síndrome símil ACV isquémico. En el protocolo Total XV (St Jude) 14 de 369 pacientes presentaron complicaciones neurológicas y de ellos 6 con síndrome símil ACV isquémico<sup>(8)</sup>. En el ensayo de UKALL 2013, 31 pacientes presentaron síndrome símil ACV isquémico (de 90 encuestas)<sup>(19)</sup>.

La fisiopatología es poco clara, se cree que es multifactorial. Existiría una alteración en la homeostasis de los folatos en el SNC y/o un daño neuronal directo<sup>(20,21)</sup>. La inhibición de la dihidrofolato reductasa (DHFR) generaría afectación de la síntesis de mielina; aumento de los niveles de homocisteína en plasma y LCR. Esto genera toxicidad directa sobre el endotelio vascular. Estos metabolitos son agonistas del NMDA, disminuyendo la S-adenosilmetionina, que interviene en el mantenimiento de la vaina de mielina<sup>(22,23)</sup>.

Los factores de riesgo identificados para el desarrollo de neurotoxicidad fueron: edad mayor a 10 años, origen hispano, aumento de aspartato aminotransferasa sérica (grado 3) en inducción/consolidación, y la administración concomitante con ciclofosfamida y citarabina sistémica<sup>(6,24,19)</sup>.

El diagnóstico en fase aguda se realiza con RMN de SNC con difusión<sup>(25)</sup>. Se observa en la sustancia blanca profunda (principalmente frontal y parietal) lesiones evidentes en difusión (edema citotóxico que restringe en difusión) y en el mapa del coeficiente de difusión aparente (ADC), con poca expresión en FLAIR y T2<sup>(9,26,27)</sup>. Las alteraciones observadas en la difusión pueden ser transitorias, por tal motivo una RMN normal no excluye el diagnóstico de neurotoxicidad por MTX<sup>(25)</sup>. La TAC SNC en general no

es necesario realizarla, excepto en casos de síntomas sugestivos de sangrado.

### Eventos trombóticos asociados a quimioterapia

Otras complicaciones neurológicas en los pacientes con LLA que reciben tratamiento con corticoides y L-asparaginasa, son los eventos trombóticos. Su incidencia varía del 1% al 36% en los diferentes estudios, dependiendo de la edad, protocolos de tratamiento utilizados, si se trata de una trombosis sintomática o asintomática y el método de tamizaje utilizado<sup>(28,29)</sup>. En cuanto a la localización, según un metanálisis de estudios prospectivos realizado por Caruso et al. se encontró que dentro de los eventos trombóticos, el 53% presentó trombosis a nivel de SNC<sup>(30)</sup>. Los eventos tromboembólicos cerebrovasculares (accidentes cerebrovasculares: ACV) son definidos como trastornos vasculares que determinan un déficit neurológico que dura más de 24 horas<sup>(31)</sup>. La trombosis vascular es responsable del ACV isquémico, puede ser arterial (*stroke*) o por trombosis del seno venoso<sup>(32)</sup>.

Según un estudio multicéntrico retrospectivo que incluyó 2318 pacientes tratados según el protocolo AEIOP 1991-1995, la prevalencia de ACV isquémico sintomático fue del 0,47%, y todos se presentaron con trombosis de seno venoso, la mayoría de los casos ocurrieron en inducción, con una mediana de edad de 9 años (rango: 4 a 16 años)<sup>(32)</sup>. Según otros estudios, la incidencia de trombosis de seno venoso es de 1,1% al 2,9%<sup>(30,33,34)</sup>. La forma de presentación más frecuente es un déficit neurológico agudo, convulsiones y cefalea.

Se han descrito múltiples factores de riesgo para el desarrollo de trombosis, entre ellos se encuentran: la edad (10 a 18 años), la utilización de L-asparaginasa (derivadas de E. Coli mayor riesgo que Erwinia) y el uso concomitante con corticoides<sup>(30,35,36)</sup>.

Para su diagnóstico y seguimiento, el patrón oro es la RMN con y sin contraste<sup>(32)</sup>. En la TAC, los signos directos e indirectos de trombosis de seno venoso están bien documentados pero a menudo no se identifican de inmediato<sup>(37)</sup>. La RMN es más sensible que la TAC para el diagnóstico de infarto cerebral dentro de las primeras 24 horas e igualmente precisa para el diagnóstico de hemorragia. Por tal motivo, ante la sospecha de una trombosis de seno venoso en niños, la RMN con y sin contraste debe realizarse lo antes posible, de no poder realizarla, la TAC es obligatoria para excluir sangrado<sup>(31)</sup>.

### Continuación del caso clínico: diagnóstico y tratamiento

El paciente evoluciona favorablemente con resolución completa de los síntomas neurológicos a las 48 horas. Se recibe informe de la angioRMN de vasos intracerebrales, solicitada previamente, que no evidencia compromiso vascular, trombosis o estenosis en vasos de mediano y gran calibre. Ecocardiograma y eco doppler de vasos de cuello dentro de parámetros normales. Con una RMN de SNC que evidencia una lesión en sustancia blanca profunda de la circunvolución precentral izquierda que restringen en difusión y habiendo descartado sangrado y causa embólica, y con la evolución clínica del paciente, se asume como síndrome similar ACV isquémico asociado a MTX. Se decide suspender el tratamiento con HBPM y continuar la quimioterapia según protocolo. El paciente finalizó el tratamiento habiendo realizado todas las PL correspondientes con la aplicación IT de MTX, sin presentar nuevo episodio. Actualmente se encuentra fuera de tratamiento desde hace 8 meses en remisión completa y sin secuelas.

### ¿Cuándo y cómo continuar el tratamiento?

Si bien la optimización de los tratamientos ha permitido sustituir en muchos casos la radioterapia craneal, la neurotoxicidad continúa siendo una causa frecuente de morbilidad y retraso en la continuidad de los tratamientos<sup>(25)</sup>. Los síntomas neurológicos frecuentemente son transitorios, con resolución completa de los mismos al cabo de pocos días. Sin embargo, en un pequeño grupo de pacientes con síndrome similar ACV isquémico, la recuperación puede llevar meses intensos de rehabilitación hasta la recuperación completa<sup>(19)</sup>. La omisión del MTX como terapia dirigida al SNC después de un episodio de neurotoxicidad, aumenta el riesgo de recaída en SNC. Según una cohorte australiana que incluyó 1251 pacientes, la incidencia acumulada de recaída en el SNC aumentó en aquellos niños en los que se omitió la administración de MTX intratecal luego de un episodio de neurotoxicidad, comparado con aquellos que continuaron con MTX intratecal durante todo el tratamiento ( $P=0,047$ ). La supervivencia libre de recaídas en el SNC a 5 años fue del  $89,2\pm 4,6\%$  cuando se interrumpió el MTX intratecal frente a  $95,4\pm 0,6\%$  cuando se continuó con MTX intratecal, y la recurrencia de la neurotoxicidad por

MTX fue baja (12,9%) luego de la reexposición<sup>(6)</sup>. Estos datos demuestran la importancia de continuar el tratamiento con MTX. Múltiples estudios han demostrado que es posible la re exposición al MTX después del primer episodio de neurotoxicidad, y entre el 82% y el 92% de los pacientes no presentan recurrencia de los síntomas<sup>(38,19)</sup>. Por tal motivo, la administración de MTX sólo debe suspenderse hasta la recuperación clínica, habitualmente menos de 7 días, sólo para unos pocos pacientes esto debería implicar un retraso de 1 a 2 semanas de tratamiento<sup>(25)</sup>. Los cambios en la sustancia blanca pueden persistir en el tiempo, por lo que no debería esperarse la resolución de la RMN para la nueva exposición al MTX<sup>(25)</sup>.

Para la re exposición no existen estudios randomizados que evalúen el beneficio de una profilaxis secundaria. Sin embargo se sabe que existe una fuerte evidencia clínica de que la administración de leucovorina disminuye la incidencia de neurotoxicidad asociada a MTX<sup>(39,40)</sup>. Una opción sería utilizar dos rescates con leucovorina ( $5 \text{ mg/m}^2/\text{dosis}$ ) en horas 24 y 30 luego de la administración intratecal de MTX. Dichos rescates no se realizan indefinidamente si el paciente no vuelve a presentar episodios<sup>(25)</sup>.

Debido a la poca frecuencia de la recurrencia ante una nueva exposición a la droga, no existen guías que evalúen la continuidad del tratamiento con MTX. En el estudio de UKALL 2003, 4 pacientes fueron re expuestos a MTX después de un segundo episodio similar ACV isquémico con recuperación completa. De éstos, 3 pacientes toleraron adecuadamente el tratamiento y 1 paciente presentó un déficit neurológico permanente<sup>(19)</sup>. En estos casos debe realizarse un enfoque individualizado evaluando riesgo/beneficio de cada paciente.

### Conclusiones

Podemos concluir que: dentro de la neurotoxicidad asociada a MTX, la presentación como PRES es lo más frecuente. El síndrome similar ACV isquémico es una complicación subaguda poco frecuente, por lo que debemos tener un alto índice de sospecha para solicitar los estudios complementarios y descartar otras etiologías que requieran un tratamiento específico. Habitualmente es reversible y no contra-indica la continuidad del tratamiento intratecal o sistémico con MTX.

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

### Bibliografía

1. Pui C-H, Yang JJ, Hunger SP, Pieters R et al. Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Progress Through Collaboration. *J Clin Oncol*. 2015;33(27):2938-2948.
2. Millan NC, Pastrana A, Gutter MR, Zubizarreta PA, Monges MS, Felice MS. Acute and sub-acute neurological toxicity in children treated for acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Res*. 2018 Feb;65:86-93.
3. Banerjee J, Niinimäki R, Lähteenmäki P, Hed Myrberg I et al. The spectrum of acute central nervous system symptoms during the treatment of childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2020 Feb;67(2):e27999.
4. Parasole R, Petruzzello F, Menna G, Mangione A et al. Central nervous system complications during treatment of acute lymphoblastic leukemia in a single pediatric institution. *Leukemia & Lymphoma*. 2010 Jun;51(6) 1063-1071.
5. Baytan B, Evim MS, Güler S, Güneş AM, Okan M. Acute Central Nervous System Complications in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *Pediatr Neurol*. 2015 Oct;53(4):312-318.
6. Mateos MK, Marshall GM, Barbaro PM, Quinn MCJ et al. Methotrexate-related central neurotoxicity: clinical characteristics, risk factors and genome-wide association study in children treated for acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2022 Mar;107(3):635-643.
7. Rubnitz JE, Relling MV, Harrison PL, Sandlund JT et al. Transient encephalopathy following high-dose methotrexate treatment in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 1998 Aug;12(8):1176-1181.
8. Bhojwani D, Sabin ND, Pei D, Yang JJ et al. Methotrexate-induced neurotoxicity and leukoencephalopathy in childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol*. 2014;32:949-959.
9. Schmiegelow K, Attarbaschi A, Barzilai S, Escherich G et al. Consensus definitions of 14 severe acute toxic effects for childhood lymphoblastic leukaemia treatment: a Delphi consensus. *Lancet Oncol*. 2016;17:e231-e239.
10. Kim SJ, Im SA, Lee JW, Chung NG et al. Predisposing factors of posterior reversible encephalopathy syndrome in acute childhood leukemia. *Pediatr Neurol*. 2012;47:436-442.
11. Anastasopoulou S, Eriksson MA, Heyman M, Wang C et al. Posterior reversible encephalopathy syndrome in children with acute lymphoblastic leukemia: Clinical characteristics, risk factors, course, and outcome of disease. *Pediatr Blood Cancer*. 2019;66:e27594.
12. Granata G, Greco A, Iannella G, Granata M et al. Posterior reversible encephalopathy syndrome--Insight into pathogenesis, clinical variants and treatment approaches. *Autoimmun Rev*. 2015;14:830-836.
13. Ghali MGZ, Davanzo J, Leo M, Rizk E. Posterior reversible encephalopathy syndrome in pediatric patients: pathophysiology, diagnosis, and management. *Leuk Lymphoma*. 2019;60:2365-2372.
14. Hafez HA, Ragab I, Sedky M, Shams M et al. Patterns, risk factors and outcome predictors of posterior reversible encephalopathy syndrome in pediatric cancer patients. *Leuk Lymphoma*. 2021;62:462-468.
15. Cordelli DM, Marra C, Ciampoli L, Barbon D et al. Posterior Reversible Encephalopathy Syndrome in infants and young children. *Eur J Paediatr Neurol*. 2021;30:128-133.
16. McKinney AM, Short J, Truwit CL, McKinney ZJ et al. Posterior reversible encephalopathy syndrome: incidence of atypical regions of involvement and imaging findings. *AJR Am J Roentgenol*. 2007;189:904-912.
17. Fugate JE, Rabinstein AA. Posterior reversible encephalopathy syndrome: clinical and radiological manifestations, pathophysiology, and outstanding questions. *Lancet Neurol*. 2015;14:914-925.
18. Ni J, Zhou L-X, Hao H-L, Liu Q et al. The clinical and radiological spectrum of posterior reversible encephalopathy syndrome: a retrospective series of 24 patients. *J Neuroimaging*. 2011;21:219-224.
19. Bond J, Hough R, Moppett J, Vora A, Mitchell C, Goulden N. "Stroke-like syndrome" caused by intrathecal methotrexate in patients treated during the UKALL 2003 trial. *Leukemia*. 2013; 27(4):954-956.
20. Cole PD, Beckwith KA, Vijayanathan V, Roychowdhury S, Smith AK, Kamen BA. Folate homeostasis in cerebrospinal fluid during therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Neurol*. 2009;40:34-41.
21. Kishi S, Griener J, Cheng C, Das S et al. Homocysteine, pharmacogenetics, and neurotoxicity in children with leukemia. *J Clin Oncol*. 2003;21:3084-3091.
22. Quinn CT, Griener JC, Bottiglieri T, Arning E, Winnick NJ. Effects of Intraventricular Methotrexate on Folate, Adenosine, and Homocysteine Metabolism in Cerebrospinal Fluid. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*. 2004;26(6):386-388.

23. Quinn CT, Griener JC, Bottiglieri T, Hyland K, Farrow A, Kamen BA. Elevation of homocysteine and excitatory amino acid neurotransmitters in the CSF of children who receive methotrexate for the treatment of cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 1997;15(8):2800-2806.
24. Taylor OA, Brown AL, Brackett J, Dreyer ZE et al. Disparities in Neurotoxicity Risk and Outcomes among Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia Patients. *Clinical Cancer Research*. 2018;34(20):5012-5017.
25. Bhojwani D, Bansal R, Wayne AS. Managing therapy-associated neurotoxicity in children with ALL. *Hematology*. 2021;2021(1):376-383.
26. Watanabe K, Arakawa Y, Oguma E, Uehara T et al. Characteristics of methotrexate-induced stroke-like neurotoxicity. *International Journal of Hematology*. 2018;108(6):630-636.
27. Rollins N, Winick N, Bash R, Booth T. Acute methotrexate neurotoxicity: findings on diffusion-weighted imaging and correlation with clinical outcome. *Am J Neuroradiol*. 2004;25:1688-1695.
28. Athale UH, Chan AKC. Thrombosis in children with acute lymphoblastic leukemia. *Thrombosis Research*. 2003;111(3):125-131.
29. Nowak-Göttl U, Kenet G, Mitchell LG. Thrombosis in childhood acute lymphoblastic leukaemia: epidemiology, aetiology, diagnosis, prevention and treatment. *Best Practice & Research Clinical Haematology*. 2009;22(1):103-114.
30. Caruso V, Iacoviello L, Di Castelnuovo A, Storti S et al. Thrombotic complications in childhood acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis of 17 prospective studies comprising 1752 pediatric patients. *Blood*. 2006;108:2216-2222.
31. Kirkham FJ. Stroke in childhood. *Arch Dis Child*. 1999;81:85-89.
32. Santoro N, Giordano P, Del Vecchio GC, Guido G et al. Ischemic Stroke in Children Treated for Acute Lymphoblastic Leukemia. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*. 2005;27(3):153-157.
33. Qureshi A, Mitchell C, Richards S, Vora A, Goulden N. Asparaginase-related venous thrombosis in UKALL 2003- re-exposure to asparaginase is feasible and safe. *British Journal of Haematology*. 2010;149(3):410-413.
34. Musgrave KM, van Delft FW, Avery PJ, Clack RM et al. Cerebral sinovenous thrombosis in children and young adults with acute lymphoblastic leukaemia - a cohort study from the United Kingdom. *British Journal of Haematology*. 2017;179(4):667-669.
35. Ranta S, Tuckuviene R, Mäkipernaa A, Albertsen BK et al. Cerebral sinus venous thromboses in children with acute lymphoblastic leukaemia - a multicentre study from the Nordic Society of Paediatric Haematology and Oncology. *British Journal of Haematology*. 2015;168(4):547-552.
36. Rank CU, Toft N, Tuckuviene R, Grell K et al. Thromboembolism in acute lymphoblastic leukemia: results of NOPHO ALL2008 protocol treatment in patients aged 1 to 45 years. *Blood*. 2018;131:2475-2484.
37. Bianchi D, Maeder P, Bogousslavsky J, Schnyder P, Meuli RA. Diagnosis of cerebral venous thrombosis with routine magnetic resonance: an update. *Eur Neurol*. 1998;40:179-190.
38. Badke C, Fleming A, Iqbal A, Khilji O et al. Rechallenge With Intrathecal Methotrexate After Developing Subacute Neurotoxicity in Children With Hematologic Malignancies. *Pediatr Blood Cancer*. 2016;63:723-726.
39. Mahoney DH Jr, Shuster JJ, Nitschke R, Lauer SJ et al. Acute neurotoxicity in children with B-precursor acute lymphoid leukemia: an association with intermediate-dose intravenous methotrexate and intrathecal triple therapy--a Pediatric Oncology Group study. *J Clin Oncol*. 1998;16:1712-1722.
40. Cohen IJ. Neurotoxicity after high-dose methotrexate (MTX) is adequately explained by insufficient folinic acid rescue. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. 2017;79(6):1057-1065.



**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.

# Emicizumab e inmunotolerancia en paciente con hemofilia A e inhibidores: reporte de caso en Ecuador



CASO CLÍNICO

Emicizumab and immunotolerance induction in a patient with hemophilia A and inhibitors: a case report in Ecuador

Chiang H<sup>1</sup>; González MC<sup>2</sup>; Rodríguez G<sup>3</sup>; Ullauri V<sup>1</sup>; Villa E<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Unidad de Hematología, Hospital José Carrasco Arteaga, Cuenca, Ecuador.

<sup>2</sup> Unidad de Reumatología, Hospital José Carrasco Arteaga, Cuenca, Ecuador.

<sup>3</sup> Área de Enfermería del Centro de Biológicos y Terapia Autoinmune, Hospital José Carrasco Arteaga, Cuenca, Ecuador.

jhonjoy3@hotmail.com

Fecha recepción: 5/5/2022

Fecha aprobación: 18/7/2022

HEMATOLOGÍA

Volumen 26 n° 2: 81-85

Mayo - Agosto 2022

**Palabras claves:** emicizumab, inmunotolerancia, hemofilia.

**Keywords:** emicizumab, immunotolerance, hemophilia.

## Resumen

Presentamos el caso de un niño de 9 años con hemofilia A e inhibidores de alto título, con criterios de respuesta posterior a inmunotolerancia (ITI) asociado a emicizumab. Esta estrategia contribuyó a un mejor control de los sangrados, permitió intensificar el régimen de fisioterapia y favoreció en su calidad de vida.

En el Ecuador la realización de la inmunotolerancia conlleva una serie de dificultades: costos elevados, provisión del factor de forma ininterrumpida, conformación de un equipo multidisciplinario, laboratorios que se encarguen de la titulación de inhibidores, o la autorización para el uso de fármacos que no se encuentran en el cuadro nacional de regulación.

Debemos establecer cuál es el mejor perfil clínico de aplicación y el impacto económico de estas terapias innovadoras (emicizumab, concizumab, fitusiran), sobre todo en nuestro medio, en el que la accesibilidad a los fármacos es compleja y la optimización de recursos es la norma.

## Abstract

We present the case of a 9-year-old boy with hemophilia A and high titer inhibitors, with post-immunotolerance induction response criteria (ITI) associated with emicizumab. This strategy contributed to a better control of bleeding, allowed to intensify the physical rehabilitation regimen and notably favored his quality of life.

In Ecuador, carrying out immunotolerance entails a series of difficulties: high costs, uninterrupted provision of the factor, formation of a multidisciplinary team, laboratories that are responsible for the titration of inhibitors, or the authorization for the use of drugs that are not in the national regulatory framework.

We must establish the best clinical application profile and the economic impact of these innovative therapies (emicizumab, concizumab, fitusiran); especially in our environment, in which accessibility to drugs is complex and optimization of resources is the norm.

## Introducción

Tomando como referencia el Informe del Sondeo Mundial Anual 2020 de la Federación Mundial de Hemofilia (WFH) publicado en octubre 2021, en el Ecuador, con una población de 17.643.060 de habitantes, existen 1708 casos con hemofilia, 99 casos con enfermedad de von Willebrand y 7 casos con otros trastornos de la coagulación. Dentro del grupo de hemofilia A, 21 pacientes se encuentran con inhibidores activos, y existe un registro de 2 nuevos casos de inhibidores en relación a la notificación previa.

En el Ecuador la realización de la inmunotolerancia en los pacientes con hemofilia e inhibidores conlleva una serie de dificultades: costos elevados, provisión del factor de forma ininterrumpida, conformación de un equipo multidisciplinario, laboratorios que se encarguen de la titulación de inhibidores, o la autorización para el uso de fármacos que no se encuentran en el cuadro nacional de regulación.

El advenimiento de las terapias no factor está suscitando una reevaluación de conceptos en hemofilia en sus diversos ámbitos, a tal grado de cuestionarnos si la ITI es útil y aplicable, o si es el fin de la era de los concentrados de factor<sup>(5,8)</sup>. Justamente en los pacientes con hemofilia A e inhibidores que fracasan o no se someten a ITI, la WFH recomienda la profilaxis con emicizumab sobre los agentes *bypass*<sup>(6)</sup>.

Uno de los argumentos a favor de erradicar el inhibidor se basa en que los pacientes que reciben emicizumab son requirentes en algún momento de tratamiento hemostático, bien sea para el control de hemorragias, traumatismos o cirugías<sup>(1,3)</sup>.

Emicizumab es un anticuerpo monoclonal biespecífico, humanizado, que une el FIX activado y el factor X (FX), dando como resultado la generación de FX activado (FXa), que luego cataliza la formación de trombina a partir de la protrombina<sup>(1,4)</sup>.

La FDA y la EMA, fundamentados en los ensayos clínicos HAVEN 1-4, aprobaron el uso de emicizumab como profilaxis en hemofilia A (con y sin inhibidores), tanto en adultos/adolescentes (>12 años) como en pediátricos (<12 años)<sup>(2)</sup>. En los análisis primarios como en el seguimiento a largo plazo, emicizumab generó reducciones estadística y clínicamente significativas en las tasas de hemorragia anuales, comparado con la profilaxis con factor VIII (en pacientes sin inhibidores) y con agentes *bypass* (en pacientes con inhibidores). Estos ensayos excluyeron pacientes en ITI.

## Caso clínico

Niño de 9 años con hemofilia A con inhibidores de título alto con el siguiente historial:

- Diagnóstico de hemofilia A severa a los 8 meses de edad (por presencia de hematomas en la ingle de aparición espontánea).
- Profilaxis con factor VIII plasmático: 25 UI/Kg 2-3 veces por semana (de forma escalonada) al año de edad aproximadamente.
- Detección de inhibidor: 239 UB (marzo 2014) a los 2 años de edad.
- Antecedentes familiares: ninguno

*Examen físico (valoración por Reumatología/Fisiatría):*

- Arco cervical conservado, rangos conservados en cintura escapular. EVA dolor 10/10. Presencia de sinovitis en rodilla izquierda y articulaciones tibioastragalinas (bilateral). DAS28: 4,26 (actividad moderada). HAQ: 1.50 (capacidad funcional afectada severamente). Marcha asistida con muleta axilar derecha (se desplazaba en silla de ruedas). Escala funcional IV.
- Rodilla izquierda: en flexión con amplitudes articulares, flexión 105 grados/extensión -35 grados. Deformidad en flexión de la rodilla izquierda de 20 grados.
- Rodilla derecha: flexión 120 grados/extensión 0 grados, dolor a la palpación en rodilla izquierda y en tobillo izquierdo, con flexión dorsal de 10 grados y plantar de 10 grados.
- Articulaciones diana: rodilla izquierda.
- Puntaje de salud articular para la hemofilia (HJHS): 33.
- Puntaje de Independencia Funcional en Hemofilia (FISH): 14.

*Evolución previo a inicio de inmunotolerancia:*

- 1) Sangrados articulares con requerimiento hospitalario: 4-8 sangrados por año con manejo con factor VIIa recombinante (rFVIIa) a dosis de 90 ug/Kg cada 2-3 horas hasta control del evento.
- 2) Manejo de vías: cámara implantable venosa (2015) con retiro por infección por *K. pneumoniae*, cámara implantable venosa (2016) con retiro por infección por *Haemophilus haemolyticus*. *Port a Cath* (2016 hasta la actualidad).
- 3) Internación en UCI pediátrico por neumonía de la comunidad con criterios de severidad (2016).

4) Se realizó radiosinovioresis (2 en la rodilla izquierda, y 1 en el tobillo izquierdo) en Brasil.

**Inmunotolerancia:**

- Fecha de inicio: marzo 2019 (edad: 6 años).
- Tipo de producto: factor VIII plasmático.
- Esquema de ITI: 100 UI/Kg/día (3 veces por semana).
- Título de inhibidor (pico histórico) previo al inicio de ITI: 239 UB (marzo 2014).
- Título de inhibidor previo al inicio de ITI: 3.60 UB.
- Tiempo desde la detección del inhibidor hasta el inicio de ITI: 5 años.
- Vía de acceso inicial: *Port a Cath*.

**Evolución durante la ITI:**

- 1) Se generó una reacción anamnésica al inicio, con una titulación de inhibidores de 153 UB con posterior descenso (Figura 1).
- 2) Presentó 3 episodios de hemartrosis con internación hospitalaria con manejo con factor VIIa recombinante VIIa (rFVIIa) a dosis de 90 ug/Kg cada 2-3 horas hasta control del evento.

En junio del 2021 bajo autorización ministerial se inició el tratamiento con emicizumab:

- Presentación: ampollas 30 mg/ml, ampollas 105 mg/0.7 cc.
- Dosis de carga: 3 mg/Kg cada semana por 4 semanas.
- Dosis de mantenimiento: 3 mg/kg c/15 días.
- Reacción: eritema.

**Resultados de laboratorio posterior a inicio de emicizumab:**

- Inhibidores o anticuerpos anti-factor VIII cromogénico: 0.4 UB (0-0-6 UB) (enero 2022).
- Inhibidores o anticuerpos anti-factor VIII cromogénico: 0.3 UB (0-0-6 UB) (marzo 2022).
- Dosificación factor VIII cromogénico bovino: 53.2 UI/dL (60 - 168 UI/dL) (marzo 2022) (valoración farmacocinética).

**Discusión**

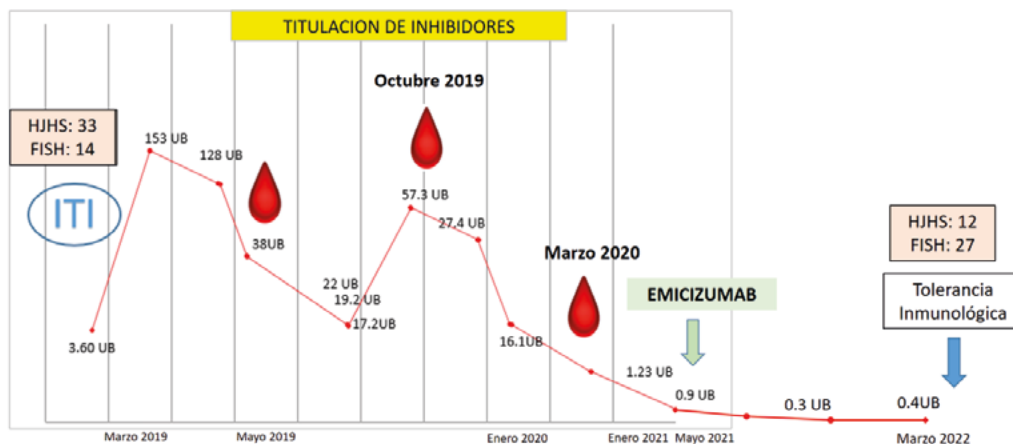
Nuestro paciente, previo a la ITI, exhibió factores predictivos de alto riesgo y de pobre pronóstico<sup>(3)</sup>. A día de hoy las recomendaciones son de establecer la ITI apenas se detecte el inhibidor independientemente del título<sup>(6)</sup>.

En marzo del 2019 se comenzó el tratamiento con el mismo producto con el cual se desarrollaron los inhibidores, presentando reducciones cercanas al 20% en las titulaciones realizadas en cada período de 3-6 meses, pero con repuntes posteriores a cada episodio de hemartrosis.

Los cuadros emergentes se manejaron con factor VIIa recombinante (rFVIIa), con el impedimento de su uso para profilaxis.

En junio del 2021, bajo autorización ministerial, se incorporó emicizumab a la ITI. Durante las dosis de carga presentó eritema en la zona de aplicación con resolución posterior, y el intervalo en la dosis de mantenimiento se instauró en base al peso y a la presentación de las ampollas, con la finalidad de optimizarlas. Esta estrategia contribuyó a un mejor

**Figura 1.**



control de los sangrados, lo que permitió intensificar el régimen de fisioterapia (HJHS: 12) y, por ende, favoreció su calidad de vida (FISH: 27).

El Protocolo Atlanta fue uno de los primeros trabajos que implementó la profilaxis de emicizumab asociado a ITI a bajas dosis<sup>(5)</sup>, esquema aplicable a nuestros sistemas sanitarios por las ventajas que nos puede otorgar (reducción de costos, limitación en el uso de catéteres venosos centrales), pero requirente de trabajos a mayor escala para corroborar sus resultados. Entre los estudios en curso se encuentra MOTIVATE e INHIBIT.

Emicizumab interfiere tanto en la medición del FVI-II:C como del inhibidor del factor VIII, aconsejándose el análisis de Bethesda cromogénico del factor VIII bovino. En el Ecuador estamos desprovisto de esta metodología, por lo que las muestras fueron procesadas en Colombia<sup>(6)</sup>.

En marzo del 2022 nuestro paciente cumplió criterios de respuesta completa de tolerancia inmunológica. El enfoque tradicional posterior es la reducción gradual del factor VIII, tanto en la dosis como en frecuencia, pero en el escenario suscitado, nos conlleva a plantear las siguientes interrogantes:

- ¿Se debe mantener la profilaxis con emicizumab?
- ¿Se debe mantener la profilaxis con emicizumab y factor VIII a bajas dosis?
- ¿Puede generarse la recurrencia del inhibidor al suprimirse la administración del factor VIII<sup>(7)</sup>?

Existen trabajos en progreso, como el PRIORITY, que aleatoriza pacientes con inhibidor de alto título que hayan respondido a ITI a recibir solo emicizumab o emicizumab más FVIII semanal (50 UI/Kg). Al igual que propuestas como la del grupo FIT, que sugiere conservar el emicizumab con el factor VIII con un mínimo de infusiones con frecuencia

semanal al menos por 6 meses; y posteriormente de manera quincenal por otros 6 meses<sup>(3)</sup>.

Dado la carencia de evidencia al respecto, proseguimos con el emicizumab y establecimos disminuir las dosis de factor VIII hasta una pauta intermedia de profilaxis (15-25 UI/Kg), asociada a la menor frecuencia posible (1-2 veces por semana), quedando pendiente precisar la duración de la estrategia.

### Conclusión

Emicizumab y los fármacos rebalanceadores de la hemostasia están revolucionando el ámbito de la hemofilia, lo que ha ampliado el margen de escenarios clínicos y por ende resulta que tengamos muchas preguntas sin respuesta de certeza (al menos hasta que los estudios en desarrollo y la evidencia acumulada nos suministren mejores directrices).

Debemos establecer cuál es el mejor perfil clínico de aplicación y el impacto económico de estas terapias, sobre todo en nuestro medio, en el que la accesibilidad a los fármacos es compleja y la optimización de recursos es la norma.

### Agradecimientos:

- Al personal de enfermería del Centro de Biológicos y Terapia Autoinmune, del Hospital José Carrasco Arteaga de Cuenca, Ecuador.
- A la Unidad de Hematología del Hospital Pediátrico Baca Ortiz de Quito, Ecuador.
- A los siguientes profesionales: Dr. Saturnino Haya Guaita (Hematología-España), Dra. Katherine Estévez (Pediatria-Endocrinología), Dra. Gloria Ramos (Bacteriología-Colombia), Dra. Verónica Goyo (Farmacología).
- A todos los hematólogos y personal sanitario que colaboraron en el manejo del paciente.

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

### Bibliografía

1. Alvarez Roman M. Guías Españolas para el manejo de la hemofilia. 2022, 1-190.
2. Callaghan M, Negrier C, Paz-Priel I, Chang T, Chebon S y col. Long-term outcomes with emicizumab prophylaxis for hemophilia A with or without FVIII inhibitors from the HAVEN 1-4 studies. *Blood*. 2021;137(16):2231-2242.
3. Carcao M, Ecurriola C, Santagostina E, Oldenburg J, Liesner R y col. The changing face of immune tolerance induction in haemophilia A with the advent of emicizumab. *Haemophilia*. 2019;25:676-684.
4. Ellsworth P, Ma A. Factor-mimetic and rebalancing therapies in hemophilia A and B: the end of factor concentrates? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2021, Dec 10;2021(1):219-225.

5. Holstein K, Le Quellec S, Klamroth R, Batorova A y col. Immune tolerance induction in the era of emicizumab – still the first choice for patients with haemophilia A and inhibitors? *Haemophilia*. 2022 Mar;28(2):215-222.
6. Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, Kitchen S, Sutherland M y col. WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. *Haemophilia*. 2020 Aug;26 Suppl 6:1-158.
7. Young G. Implementing emicizumab in hemophilia inhibitor management: emicizumab should be prescribed after tolerance. *Blood Advances*. 2018;2:2780-2782.
8. Young G. Management of children with hemophilia A: How emicizumab has changed the landscape. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2021 Jul;19(7):1629-1637.



**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.

# Neoplasia de células dendríticas plasmocitoides

Blastic plasmocitoid dendritic cell neoplasm

Cismondi V<sup>1</sup>; Crudo C<sup>1</sup>; Gómez M<sup>1</sup>; Santorum C<sup>2</sup>; Garavaglia G<sup>3</sup>; Arias M<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> *Laboratorio de Hematología, sector Citometría de Flujo, Hospital Milstein.*

<sup>2</sup> *Servicio de Hematología, Hospital Milstein.*

<sup>3</sup> *Servicio de Patología. Hospital Español. Unidad Asistencial Dr. César Milstein -PAMI*

valecismondi@hotmail.com

Fecha recepción: 29/6/2022

Fecha aprobación: 26/7/2022



CASO CLÍNICO

HEMATOLOGÍA

Volumen 26 n° 2: 86-90

Mayo - Agosto 2022

**Palabras claves:** citometría de flujo, células dendríticas, leucemia aguda.

**Keywords:** flow cytometry, dendritic cells, acute leukemia.

## Resumen

La neoplasia de células dendríticas plasmocitoides o BPCDN (*blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm*) es una patología hematológica maligna poco frecuente y muy agresiva. Afecta con mayor frecuencia al género masculino a partir de la sexta década de la vida. Se manifiesta generalmente con lesiones cutáneas con posterior compromiso de la médula ósea, sangre periférica y afectación neuromeningea. Se describe el caso de un paciente masculino de 73 años, con cuadro de astenia, adinamia, anemia marcada y lesiones en piel a nivel del tórax, compatibles con leucemias. Se realizaron estudios de citometría de flujo (CF), medulograma, estudio citogenético en médula ósea (MO) y biopsia de las lesiones cutáneas. El inmunofenotipo por CF fue compatible con una BPCDN. Se comenzó tratamiento y actualmente el paciente presenta enfermedad mínima residual no detectable.

## Summary

Plasmacytoid dendritic cell neoplasm or BPCDN (blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm) is a rare and very aggressive malignant hematological pathology. It affects more frequently the male gender from the sixth decade of life. It generally manifests with skin lesions with subsequent involvement of the bone marrow, peripheral blood and neuromeningeal involvement. We report the case of a 73-year-old male patient, with asthenia, adynamia, anemia and skin lesions at the level of the chest that could be compatible with leukemias. Flow cytometry (CF), karyotype and morphology in bone marrow, and biopsy of skin lesions were performed. The CF immunophenotype reported a BPCDN. Treatment was started and the patient currently has undetectable minimal residual disease.

## Introducción

La neoplasia de células dendríticas o BPCDN, por sus siglas en inglés, es una neoplasia hematológica que se caracteriza por su comportamiento agresivo, rápida diseminación sistémica y una sobrevida media de 12 a 16 meses. Su incidencia es baja, menos del 1% de las neoplasias malignas, siendo mayor en el género masculino, con relación de 3:1, y con mayor prevalencia en la sexta década de vida<sup>(1)</sup>. Las manifestaciones clínicas de la enfermedad son heterogéneas, si bien su manifestación más común es cutánea (64-100%) seguida de compromiso de la médula ósea y sangre periférica (60-90%) y ganglios linfáticos (40-50%). El compromiso del sistema nervioso central es frecuente, se observa en 4 a 9% de los pacientes al momento del diagnóstico y en 17 a 33% de los pacientes con recaída<sup>(2-4)</sup>. En su forma cutánea representa el 0.7% de los linfomas cutáneos, mientras que la manifestación leucémica representa menos del 0.44% de los casos de leucemia aguda. Aproximadamente 10-20% de los casos de BPCDN pueden asociarse a otras neoplasias mieloides, como leucemia mielomonocítica crónica, síndrome mielodisplásico o leucemia mieloide aguda<sup>(1-4)</sup>.

Las células de la BPDCN se caracterizan por la expresión de CD4, CD56, CD43, CD4RA, HLADR y antígenos asociados a célula dendrítica como CD123, CD303 (BDCA-2), TCL1A, CD2A y SPIB, en ausencia de marcadores específicos de otros linajes celulares. Se suele observar expresión de CD7, CD2, CD5, CD36 y CD33 dentro de los antígenos asociados a linaje linfóide y mieloide<sup>(1,5,6)</sup>. El inmunofenotipo por CF tiene la ventaja de poder seleccionar la población de interés y evaluar la intensidad de expresión antigénica, por lo que resulta de gran utilidad en esta neoplasia. La expresión de CD4, CD56, CD45RA, HLADR y CD123 es considerada patognomónica de BPDCN junto con la expresión de CD303<sup>(1,5,6)</sup>.

Existen neoplasias que pueden compartir características morfológicas y genotípicas con la BPDCN, como la leucemia mieloide aguda con diferenciación monocítica, que puede expresar CD4, CD56 y CD123, por lo que debe realizarse un panel completo para el diagnóstico diferencial de estas patologías<sup>(1,5)</sup>. No existe un protocolo terapéutico estandarizado para este tipo de patología, sin embargo se han observado mejores tasas de supervivencia y desenlaces con protocolos tipo LLA con posterior consolidación

con TPH. A pesar de una buena respuesta inicial, el pronóstico es adverso con supervivencia que no supera los 12 meses en pacientes que han recibido los protocolos de tratamiento estándar. Según la guías del NCNN el tratamiento de la leucemia de células dendríticas, dada su baja incidencia, queda a consideración del manejo de un equipo multidisciplinario de acuerdo a la experiencia del centro en el tratamiento de dicha enfermedad, sin embargo sugieren tratamientos con protocolos como HyperCVAD con consolidación con TPH o el uso de tagraxofusp, citotoxina dirigida contra CD123, medicamento no disponible en la Argentina<sup>(2-4)</sup>.

El venetoclax es una terapia experimental con actividad frente a la leucemia de células dendríticas, logrando con dicho tratamiento respuesta, incluso en pacientes recaídos/refractarios. El uso de venetoclax en pacientes con leucemia de células dendríticas se basa en el mecanismo proapoptótico de dicha molécula que, según descripción para su aprobación para el tratamiento de LMA, tiene actividad en distintas mutaciones, como en el caso de *TP53* e *IDH*. La mayor experiencia terapéutica con el uso de venetoclax en pacientes con leucemia de células dendríticas se evalúa en el MD *Anderson Cancer Center* dada la alta expresión de *BCL2* en las células leucémicas dendríticas. Además el venetoclax no sólo actuaría como terapia dirigida sino como sensibilizante para mejorar respuesta a otras terapias<sup>(2-4)</sup>.

## Caso clínico

Paciente de sexo masculino de 73 años, que ingresó por guardia, con cuadro de astenia, adinamia, anemia marcada, afebril, normotenso y sin sangrados; con antecedentes de hipertensión arterial, cirugía de vesícula y hemorragia digestiva alta por doble úlcera duodenal, esofagitis y síndrome de ansiedad. Al examen físico presentó algunas lesiones en piel eritematovioláceas a nivel del tórax que podrían corresponder a leucemides. Una TAC anterior al ingreso al servicio de urgencias mostraba adenopatías en ambas cadenas inguinales, en regiones axilares y espacio pericardicodiafragmático derecho y esplenomegalia de 20.5 cm. El paciente refirió cuadro clínico de un año de evolución con bicitopenia y estar medicado con enalapril, atenolol, rivotril, fluoxetina y ranitidina. Se realizó laboratorio que informó hemoglobina de 6 g/dL con hematocrito de 19.5%, leucocitos totales aumentados ( $18 \times 10^3/\mu\text{L}$ ) y recuento

de plaquetas ( $72 \times 10^3/\text{uL}$ ). Inició transfusión con 2 unidades de glóbulos rojos.

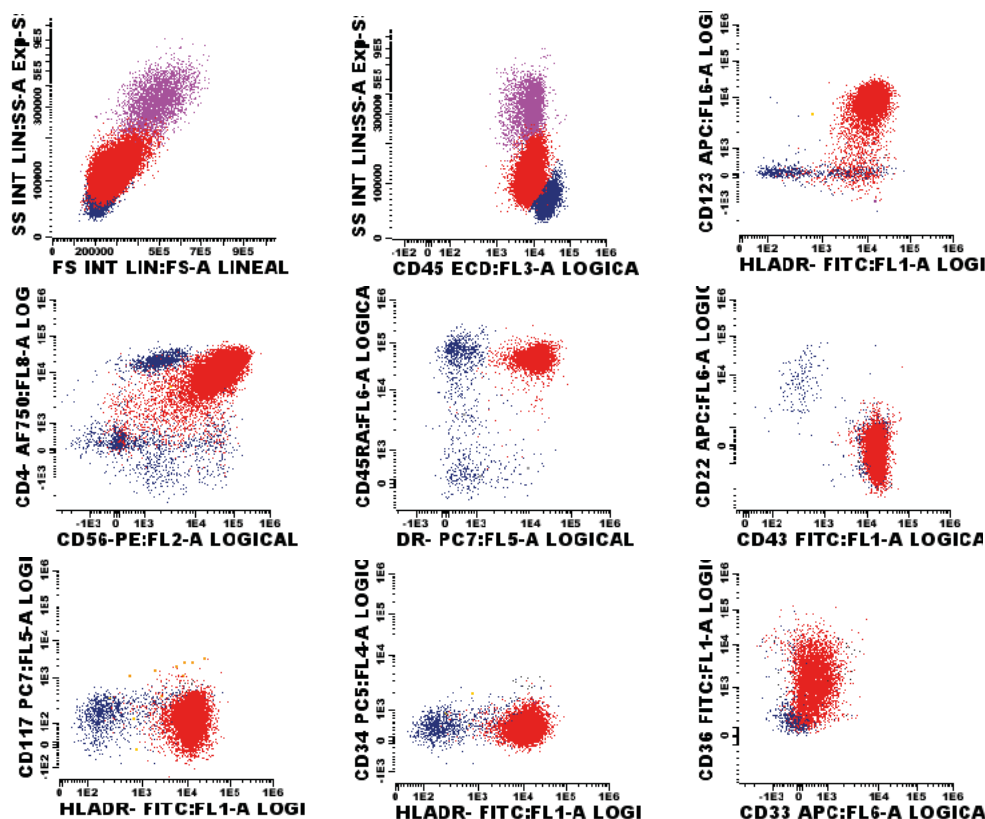
Se derivó el paciente al Servicio de Hematología del hospital y se realizó nuevo hemograma que presentó: hematocrito: 23%, leucocitos  $10 \times 10^3/\text{uL}$  y plaquetas:  $40 \times 10^3/\text{uL}$ . El análisis morfológico informó en la serie roja marcada hipocromía con marcada anisopoiquilocitosis (dianocitos, equinocitos, ovalocitos), en serie blanca se observó más del 50% de células atípicas compatibles con blastos y algunas macroplaquetas.

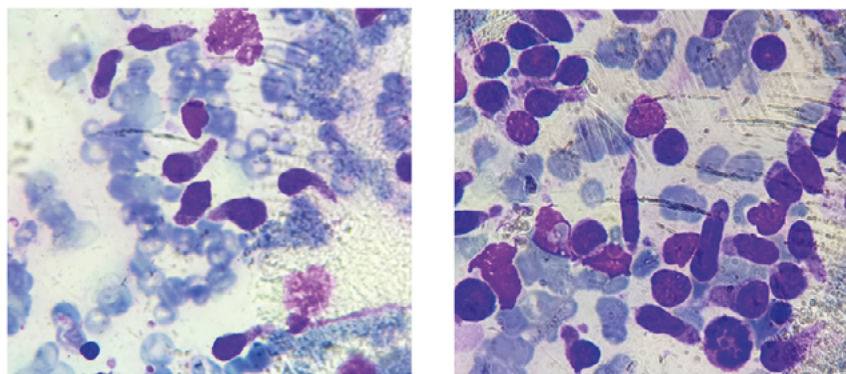
Se realizó citometría de flujo en sangre periférica (SP) con un citómetro Navios Ex Beckman Coulter, 2 láser, 8 colores y programa de análisis Infinicyt v2.0 con un panel diseñado siguiendo los lineamientos de Euroflow<sup>(7)</sup>. Se encontró una población que comprendía el 75 % de la celularidad, de mediano tamaño, expresión débil de CD45 y con fuerte intensidad en la expresión de HLADR++, CD56++, CD4++, CD123+++, CD45RA+, compatible con una neoplasia de célula dendrítica plasmocitoide. Se observó positividad además para CD38, CD36,

CD43, CD1a, CD7, y positividad débil para CD5 (Figura 1). Las células fueron negativas para CD34 y CD117 así como para marcadores de linaje monocítico (CD64, CD14, CD300e), granulocítico (CD15, CD16, CD11b, MPO), eritroide (CD105, CD71) y linfocito B y T (CD3cit, CD19, CD79a cit). En la serie monocítica se observó expresión aberrante de CD56.

En la CF de MO se informó un 95% de células con inmunofenotipo similar al descrito en SP, mientras que en el medulograma se observó un 92% de células atípicas, de las cuales 78% eran de mediano a gran tamaño, mononucleares, algunos con alta relación núcleo:citoplasma, citoplasma basófilo, núcleo excéntrico, cromatina laxa con presencia de 1 o más nucléolos, algunos con vacuolas, pseudópodos y prolongaciones citoplasmáticas, compatibles con células dendríticas, un 20% presentaba morfología tipo monoblasto y un 2% morfología similar a linfoblastos (Figura 2), con una relación mielo/eritroide en la celularidad remanente igual a 1. El cariotipo fue 46, XY.

**Figura 1.** Citometría de flujo en SP. Se observa en rojo la población de blastos de origen dendrítico plasmocitoide. Se observan los linfocitos en azul, los granulocitos neutrófilos en magenta, monocitos en celeste, basófilos en amarillo.



**Figura 2.** Morfología de las células dendríticas en MO (40x)

En el estudio histopatológico se observó una MO con celularidad aumentada para la edad (80%) a expensas de una proliferación celular atípica dispuesta en patrón difuso, con elementos celulares de núcleo ovoide de cromatina laxa y citoplasma eosinófilo. La inmunomarcación fue positiva para CD4, CD5, CD45 (débil) y CD56; y negativa para MPO, CD20, CD10, CD3, CD138, CD68, CD34, CD117, CD71, CD10. El CD123 se encontraba pendiente de confirmación. El Ki67 fue de 5% en la proliferación atípica. En el LCR no se detectó presencia de enfermedad por CF, mientras que en la biopsia de las lesiones de piel se observó la presencia de un 94% de células dendríticas blásticas con fenotipo similar al descrito inicialmente en la SP.

En el contexto de leucemia aguda se inició tratamiento con corticoides previa protección con omeprazol. Se indicó aislamiento para paciente neutropénico más profilaxis antimicrobiana con aciclovir y trimetoprim/sulfametoxazol. Se inició tratamiento con venetoclax terminando el 3er. ciclo para el momento de la redacción de este artículo. Actualmente el paciente presenta enfermedad mínima residual no detectable por CF, si bien en el último inmunofenotipo que se realizó se observó expresión aberrante de

CD56 en serie monocítica.

### Conclusión

La neoplasia de células dendríticas es una neoplasia catalogada desde el año 2016 como una entidad independiente<sup>(1)</sup>, de comportamiento agresivo y mal pronóstico. La evolución del paciente depende de diversos factores, entre ellos el tratamiento, la respuesta del organismo a este tratamiento y la etapa en que se diagnostique la enfermedad<sup>(8)</sup>. En los casos reportados en la literatura<sup>(5,8)</sup> se expone la importancia del diagnóstico diferencial con otras neoplasias hematológicas utilizando técnicas de laboratorio específicas como la histopatología, la biología molecular y la citometría de flujo, aportando ésta última la mayor celeridad en la caracterización de la entidad. En la actualidad, con el advenimiento de la inmunoterapia, existen nuevos tratamientos<sup>(2-4)</sup> que muestran resultados promisorios para mejorar el pronóstico de esta enfermedad.

Siendo ésta una patología con muy baja frecuencia de presentación y sin un tratamiento estandarizado, la evolución clínica en el paciente que describimos ha superado las expectativas del tratamiento hasta el momento.

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

### Bibliografía

1. Facchetti F, Petrella T, Pileri SA. Blastic plasmocitoid dendritic cell neoplasm. Swerdlow JS, Campos E, Harris N, Jaffe E et al. WHO classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 2017; Chapter 9:174-177.
2. Cheng W, Yu T, Tang Ai-ping, He Young K, Yu L. Blastic Plasmacytoid Dendritic Cell Neoplasm: Progress in Cell Origin, Molecular Biology, Diagnostic Criteria and Therapeutic Approaches. *Current Medical Science*. 41(3):2021.
3. Sapienza MR, Pileri A, Derenzini E et al. Blastic Plasmacytoid Dendritic Cell Neoplasm: State of the Art and Prospects. *Cancers (Basel)*. 2019 Apr 28;11(5):595.
4. Pagano L, Valentini C, Sara Grammatico S, Pulsoni A. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm: diagnostic criteria and therapeutical approaches. *British Journal of Haematology*. 2016;174:188-202.
5. Bueno C, Almeida J, Lucio P et al. Incidence and characteristics of CD4+/HLA DRhi dendritic cell malignancies. *Haematologica*. 2004;89:58-69.
6. Wang W, Khoury J, Miranda R et al. Immunophenotypic characterization of reactive and neoplastic plasmacytoid dendritic cells permits establishment of a ten-color flow cytometric panel for initial workup and residual disease evaluation of blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm. *Haematologica*. 2021 Apr 1;106(4):1047-1055.
7. Van Dongen JJM, Lhermitte L, Bottcher S et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia*. 2012 Sep;26(9):1908-75.
8. Pagano L, Valentini CG, Pulsoni A et al. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm with leukemic presentation: an Italian multicenter study. *Haematologica*. 2013;98:239-246.



**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.

# Luspatercept: agente madurador eritroide para el tratamiento de la anemia en pacientes con síndromes mielodisplásicos de bajo riesgo

Luspatercept: an erythroid maturation agent for the treatment of anemia in patients with lower risk myelodysplastic syndromes

Quarchioni, Micaela Andrea

*Servicio de Hematología, Hemoterapia y Trasplante de Médula Ósea. Hospital Británico de Buenos Aires.*

mquarchioni@hbritanico.com.ar  
micaquar@hotmail.com

Fecha recepción: 13/8/2022

Fecha aprobación: 29/8/2022



NUEVAS DROGAS

HEMATOLOGÍA  
Volumen 26 n° 2: 91-96  
Mayo - Agosto 2022

**Palabras claves:** luspatercept,  
síndromes mielodisplásicos bajo riesgo,  
sideroblastos en anillo,  
eritropoyesis inefectiva,  
superfamilia TGF- $\beta$ .

**Keywords:** luspatercept,  
lower-risk myelodysplastic syndromes,  
ineffective erythropoiesis,  
ring sideroblasts,  
TGF- $\beta$  superfamily.

## Fundamento

Luspatercept actúa como una trampa de ligandos para neutralizar reguladores negativos en la etapa tardía de la eritropoyesis. Fue aprobado por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) y la Agencia Europea de Medicamentos en el año 2020 para el tratamiento de la anemia en síndromes mielodisplásicos de bajo riesgo con sideroblastos en anillo (SMD-SA) y síndromes mielodisplásicos/mieloproliferativos con sideroblastos en anillo y trombocitosis (SMD/NMP-SA-T). Se posiciona como una segunda línea terapéutica para aquellos pacientes con requerimiento transfusional de glóbulos rojos luego de la falla a los agentes estimulantes de la eritropoyesis o para pacientes que no

son elegibles debido a niveles altos de eritropoyetina sérica.

## Abstract

Luspatercept acts as a “ligand trap” to neutralize negative regulators in late erythropoiesis. It was approved by the US Food and Drug Administration and the European Medicines Agency (EMA) in 2020 for the treatment of anemia in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes with ring sideroblasts and myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms with ring sideroblasts and thrombocytosis requiring red blood cell transfusion. It is positioned as a second line treatment after erythropoiesis-stimulating agents failure or for patients with high serum erythropoietin levels.

## Introducción

Los síndromes mielodisplásicos de bajo riesgo (SMD-BR) se definen como aquellos pacientes que tienen una puntuación menor a 3,5 según el Índice Pronóstico Internacional Revisado (IPSS-R)<sup>(1)</sup>. Este grupo tiene baja probabilidad de progresión a leucemia mieloblástica aguda (LMA) con supervivencia prolongada, pero alta prevalencia de anemia como resultado de la eritropoyesis inefectiva.

La anemia crónica conduce al deterioro del estado funcional de los pacientes con edad avanzada, genera astenia, incrementa el riesgo de caídas y tiene alto impacto en aquellos con comorbilidad cardíaca, respiratoria y/o renal.

Un número importante de pacientes desarrollará dependencia transfusional de glóbulos rojos durante el curso de la enfermedad, con sobrecarga de hierro secundaria, riesgo de aloinmunización y movilización de recursos de alto costo económico<sup>(2)</sup>.

El objetivo terapéutico en estos pacientes consiste en incrementar los niveles de hemoglobina (Hb), lograr independencia transfusional y mejorar la calidad de vida. El Grupo Internacional de Trabajo (IWG) propuso criterios de respuesta hematológica eritroide en 2006 y luego los modificó en 2018 para homogeneizar las evaluaciones clínicas<sup>(3,4)</sup>.

Actualmente los agentes estimulantes de la eritropoyesis (AEEs), como la eritropoyetina recombinante humana alfa y beta, y la darbepoetina, constituyen el tratamiento de primera línea. Estos agentes han demostrado respuestas del 50% con duraciones globales de 18-24 meses. Los pacientes con alta carga transfusional, niveles de eritropoyetina sérica (EPOs) mayor a 200 U/L y SMD con sideroblastos en anillo (SMD-SA) tienen menores tasas de respuesta a los AEEs<sup>(5)</sup>.

Recientemente se ha dilucidado el rol de las vías de señalización del factor transformador de crecimiento beta (TGF- $\beta$ ) en la regulación de la eritropoyesis en SMD. Estos hallazgos dieron lugar a la generación de una nueva droga involucrada en la maduración eritroide, el "luspatercept".

## Eritropoyesis inefectiva y alteraciones de la vía de señalización TGF- $\beta$ en SMD.

La eritropoyesis normal incluye una etapa temprana de proliferación y diferenciación de células progenitoras hematopoyéticas en progenitores eritroides, y una etapa posterior de maduración eritroide terminal

en glóbulos rojos. Los progenitores eritroides tempranos responden a varias citoquinas, incluido el factor estimulante de colonias monocíticas-granulocíticas (GM-CSF), EPO y factor de células madre (SCF). En etapas posteriores, el SCF actúa sinérgicamente con la EPO en la proliferación y expansión de los progenitores eritroides en desarrollo. Los glóbulos rojos en las etapas terminales de diferenciación se desprenden de su núcleo, del retículo endoplásmico y de las mitocondrias y no pueden proliferar.

En los SMD la alteración en la diferenciación eritroide se explica por la presencia de un microambiente inflamatorio asociado a defectos clonales que favorecen la muerte celular piroptótica acelerada, en combinación con una sobreexpresión de la vía TGF- $\beta$ .

La superfamilia TGF- $\beta$  incluye un gran número de proteínas, entre ellas activinas, factores de diferenciación de crecimiento (GDF) y proteínas morfogénicas óseas (BMP), secretadas principalmente por células progenitoras hematopoyéticas y mesenquimales.

La familia TGF- $\beta$  emite señales a través de receptores transmembrana, como por ejemplo el receptor de activina, que son compartidos por algunas de las BMP y GDF. La señalización de activina se lleva a cabo a través de la formación de un complejo ternario entre el ligando y los receptores tipo II y tipo I, que finalmente fosforila las proteínas SMAD. La señalización de TGF- $\beta$  normalmente inhibe la diferenciación eritroide terminal mediante la inducción de la apoptosis y la detención del ciclo celular en los eritroblastos.

Durante la maduración eritroide temprana, se produce una supresión paralela de la señalización de TGF- $\beta$  a través de la reducción de la expresión de GDF y la estimulación por EPO. En pacientes con SMD, la activina A favorece la apoptosis, con aumento de la señalización de TGF- $\beta$ , GDF11 plasmático y SMAD2/3 fosforilado, lo que sugiere una activación constitutiva de la señalización de TGF- $\beta$  en las células CD34+ que lleva a la eritropoyesis ineficaz, hiperplasia eritroide y sobrecarga de hierro<sup>(6,7,8)</sup>.

## Luspatercept

### Estructura y mecanismo de acción

Es una proteína de fusión recombinante compuesta por un dominio extracelular modificado del receptor de activina humana tipo IIB unido a la fracción constante de IgG-1 humana Figura 1.

Su mecanismo de acción consiste en unirse a ligandos seleccionados de la superfamilia del TGF- $\beta$ , inhibiendo la señalización mediada por SMAD2/3. De este modo se produce la diferenciación de eritrocitos a través de la maduración de progenitores eritroides tardíos en la médula ósea (figura 2)<sup>(9,10)</sup>.

#### Farmacocinética

Se espera que luspatercept sea catabolizado por degradación general de proteínas en una amplia gama de tejidos corporales. Su vida media aproximada es de 11 días. La insuficiencia hepática o renal leve a moderada, los niveles basales de EPO y albúmina, el grado de carga transfusional y la administración conjunta de agentes quelantes de hierro no tuvieron un efecto clínicamente significativo en la farmacocinética de luspatercept<sup>(11,12)</sup>.

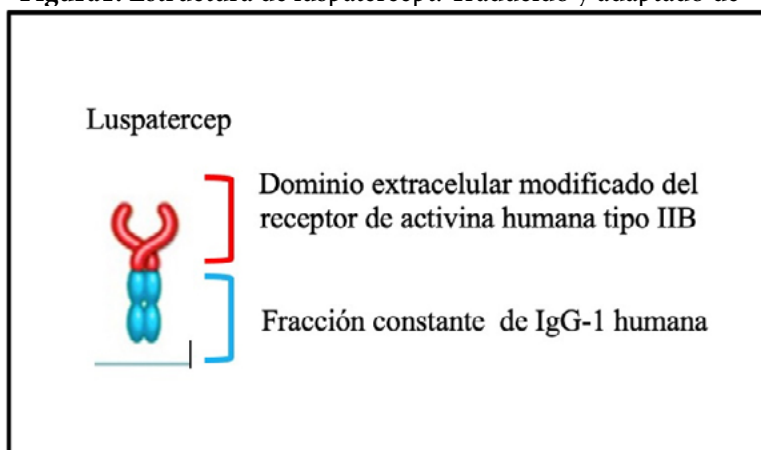
#### Dosis y vía de administración

Se aplica de manera subcutánea cada 21 días. El manejo de dosis y frecuencia de administración se resume en la tabla 1<sup>(12)</sup>.

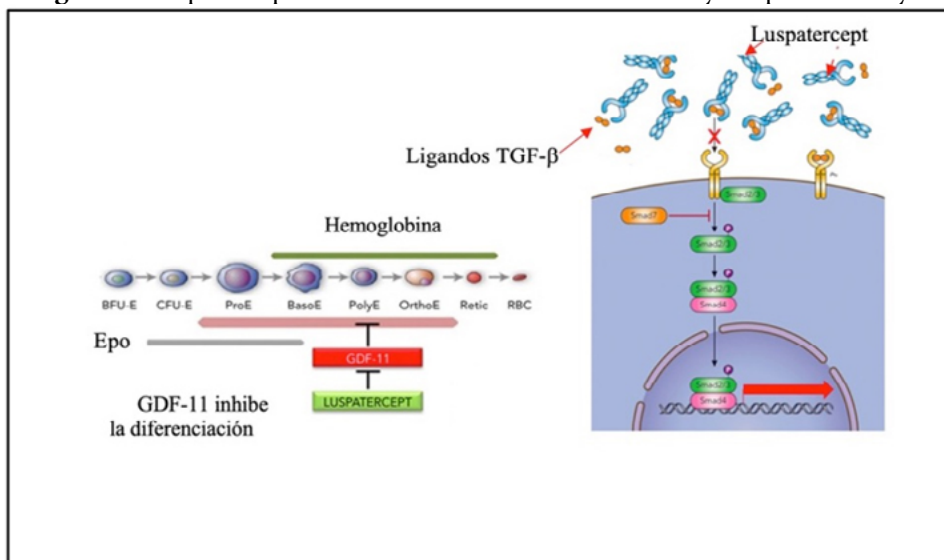
#### Ensayos clínicos con foco en SMD-BR

Un estudio fase I incluyó a mujeres post menopaúsicas sanas, en las que se observó incremento de niveles de Hb al día 15 luego de dosis escaladas de luspatercept respecto al grupo placebo, siendo los efectos adversos leves y comparables entre ambas ramas<sup>(13)</sup>. El estudio fase II PACE-MDS fue el pilar para determinar la dosis. El 63% de los pacientes tratados con luspatercept tuvieron respuesta hematológica eritroide según los criterios del IWG 2006, siendo mayor en el subgrupo que tenía sideroblastos en anillo<sup>(14)</sup>.

**Figura 1.** Estructura de luspatercept. Traducido y adaptado de<sup>(9)</sup>.



**Figura 2.** Luspatercept. Mecanismo de acción. Traducido y adaptado de<sup>(9)</sup> y<sup>(6)</sup>.



**Tabla 1.** Dosis recomendadas de luspatercept

Dosis inicial	1 mg/kg cada 3 semanas
Incremento de dosis por respuesta inicial insuficiente	
DT-GR* luego de al menos 2 dosis consecutivas (6 semanas) de 1 mg/kg	Incrementar dosis a 1,33 mg/kg cada 3 semanas
DT-GR luego de al menos 2 dosis consecutivas (6 semanas) de 1,33 mg/kg	Incrementar dosis a 1,75 mg/kg cada 3 semanas
<b>Si no se reduce DT-GR</b> luego de al menos 3 dosis consecutivas (9 semanas) de <b>1.75 mg/kg</b>	Discontinuar tratamiento
Modificaciones de dosis según niveles de Hb o rápido incremento de Hb	
Si pre dosis Hb $\geq$ <b>11.5 g/dL</b> en ausencia de transfusiones	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Interrumpir tratamiento</li> <li>• Reiniciar cuando Hb &lt; 11 g/dL</li> </ul>
Incremento de Hb $\geq$ <b>2 g/dL</b> durante 3 semanas en ausencia de transfusiones y: <ul style="list-style-type: none"> <li>• la dosis actual es de 1,75 mg/kg</li> <li>• la dosis actual es de 1,33 mg/kg</li> <li>• la dosis actual es de 1 mg/kg</li> <li>• la dosis actual es de 0,8 mg/kg</li> <li>• la dosis actual es de 0,6 mg/kg</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reducir la dosis a 1,33 mg/kg</li> <li>• Reducir la dosis a 1 mg/kg</li> <li>• Reducir la dosis a 0,8 mg/kg</li> <li>• Reducir la dosis a 0,6 mg/kg</li> <li>• Suspender el tratamiento</li> </ul>
Suspensión de tratamiento si:	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• No experimenta una disminución en la carga de transfusión después de 3 dosis (9 semanas de tratamiento) al nivel de dosis máxima.</li> <li>• Se produce una toxicidad inaceptable en cualquier momento.</li> </ul>	

\* DT-GR: dependencia transfusional de glóbulos rojos

Estos resultados dieron lugar al estudio fase III MEDALIST (NCT02631070), multicéntrico, randomizado, doble ciego para evaluar eficacia y seguridad de luspatercept contra placebo. Se incluyeron 229 pacientes  $\geq$ 18 años, con diagnóstico de SMD-SA IPSS-R riesgo muy bajo, bajo o intermedio con dependencia transfusional de glóbulos rojos (definida como el requerimiento de 2 unidades o más de glóbulos rojos por 8 semanas durante las 16 semanas previas a la randomización), refractarios a AEEs, no candidatos a AEEs por EPOs  $\geq$  200 U/L o que generaron eventos adversos a EPO, sin haber recibido lenalidomida ni agentes hipometilantes previamente.

Los pacientes fueron randomizados 2:1 a recibir luspatercept subcutáneo a dosis inicial de 1 mg/kg cada 3 semanas, con ajustes de dosis a 1,33 mg/kg y hasta un máximo de 1,75 mg/kg contra placebo. La primera evaluación se hizo a la semana 24. Los que respondieron continuaron hacia la fase de extensión. La mediana de seguimiento fue de 14 meses. De 153 pacientes que recibieron luspatercept, 58 (38%) lograron el objetivo primario que fue la independencia transfusional de glóbulos rojos de 8 semanas o más (evaluados entre las semanas 1-24) en

comparación con 10/76 pacientes (13%) de los que recibieron placebo. (Figura 3). En aquellos con alta carga transfusional de glóbulos rojos estas respuestas fueron francamente menores en comparación con los que tenían baja carga transfusional.

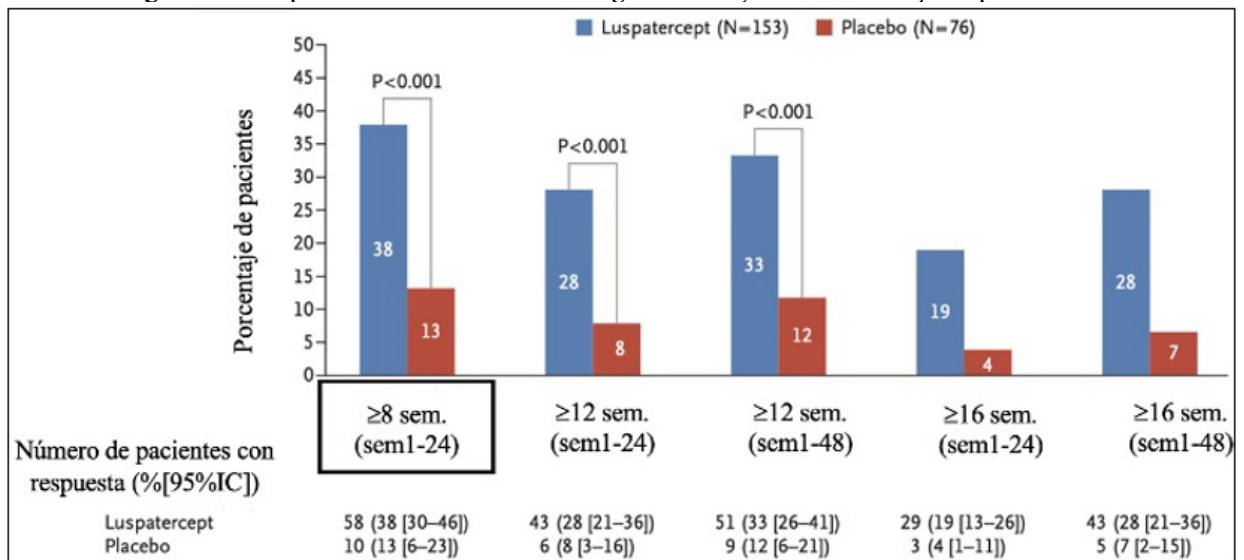
#### *Perfil de seguridad publicado en MEDALIST*

Luspatercept se asoció sólo con toxicidad de bajo grado. Los eventos adversos asociados a luspatercept más comunes de cualquier grado incluyeron fatiga, dolores óseos y musculares, diarrea, astenia, náuseas y mareos, y fueron en su mayoría de grado 1 o 2. El 31 % de los pacientes (48/153) que recibieron luspatercept en comparación con el 30 % (23/76) que recibieron placebo tuvieron al menos un evento adverso grave<sup>(15)</sup>.

Recientemente se publicaron los resultados a largo plazo del estudio MEDALIST, con el doble de tiempo de seguimiento del análisis primario.

Al 1° de julio de 2019, el 26,8 % de los pacientes seguían recibiendo luspatercept después de más de 2 años. Todos los pacientes que recibieron placebo habían interrumpido el tratamiento. La independencia transfusional de glóbulos rojos mayor a igual

**Figura 3.** Independencia transfusional de glóbulos rojos. Traducido y adaptado de <sup>(15)</sup>.



a 8 semanas durante las semanas 1-48 fue de 45% para luspatercept y 15,8% para la rama placebo ( $P < 0,0001$ )<sup>(16)</sup>.

De los 229 pacientes del estudio MEDALIST, 23 (10%) tenían SMD/NMP-SA-T. 14 fueron aleatorizados a luspatercept y 9 a placebo. Una proporción significativamente mayor de pacientes con SMD/NMP-SA-T aleatorizados a luspatercept lograron independencia transfusional de glóbulos rojos mayor o igual a 8 semanas durante las semanas 1 a 24 (64,3% vs. 22,2 %;  $P = 0,028$ )<sup>(18)</sup>.

Otra actualización reciente informó que el 69,3% (106/153) debieron escalar a la dosis máxima de luspatercept de 1,75 mg/kg. Durante todo el período de tratamiento la independencia transfusional de glóbulos rojos mayor o igual a 16 semanas fue de 31,4% (48/153) para los pacientes que recibieron luspatercept. Para los respondedores la media acumulada de duración de la independencia transfusional de glóbulos rojos mayor o igual a 8 semanas fue de 80 semanas. Del análisis de estos pacientes se reportó que la progresión a SMD riesgo alto y o LMA durante el período de tratamiento fue de 8,5% (13/153) para los tratados con luspatercept y del 6,6% (5/76) para el grupo placebo. Todos los pacientes que progresaron tenían mutaciones riesgo desfavorable adicionales al SF3B1<sup>(19)</sup>.

#### Aprobaciones regulatorias

El ensayo MEDALIST condujo a la aprobación de

luspatercept por FDA y EMA en abril de 2020 como estándar de tratamiento para pacientes con SMD que cumplen con los criterios de SA, IPSS-R riesgo muy bajo, bajo o intermedio y SMD/NMP-SA-T con dependencia transfusional de glóbulos rojos mayor o igual a 2 unidades durante 8 semanas consecutivas en adultos, después del fracaso del tratamiento con un AEEs o que no sean candidatos para recibirla por EPOs > 200 U<sup>(6)</sup>.

Al momento de esta revisión, luspatercept no se encuentra aprobado en Argentina para esta indicación.

Si bien no es el foco de esta revisión, el estudio fase III BELIEVE demostró que luspatercept redujo la carga transfusional en pacientes adultos con beta-talasemia. Con estos resultados la FDA (2019) y EMA (2020) aprobaron luspatercept para el tratamiento de anemia en adultos con beta talasemia dependiente de transfusiones<sup>(6,16)</sup>.

#### Perspectiva con luspatercept

Quedan muchas preguntas por responder respecto al uso de luspatercept.

Un punto clave de interés es investigar su efectividad en otros subtipos de síndromes mielodisplásicos y neoplasias mieloproliferativas con anemia, así como también comparar su efectividad con otras drogas y la sinergia terapéutica con otros agentes.

Se aguardan resultados de nuevos ensayos clínicos que nos permitirán dilucidar estos interrogantes.

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

### Bibliografía

- Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J y col. Revised International Prognostic Scoring System for myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2012;120(12):2454-2465.
- Goldberg SL, Chen E, Sasane M, Paley C, Guo A, Laouri M. Economic impact on US Medicare of a new diagnosis of myelodysplastic syndromes and the incremental costs associated with blood transfusion need. *Transfusion*. 2012;52(10):2131-2138.
- Cheson BD, Greenberg PL, Bennett JM y col. Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia. *Blood*. 2006;108(2):419-425.
- Platzbecker U, Fenaux P, Adès L y col. Proposals for revised IWG2018 hematological response criteria in patients with MDS included in clinical trials. *Blood*. 2019;133(10):1020-1030.
- Fenaux P, Platzbecker U, Adès L. How we manage adults with myelodysplastic syndrome. *Br. J Haematology*. 2020;189(6):1016-1027.
- Kubasch AS, Fenaux P y Platzbecker U. Development of luspatercept to treat ineffective erythropoiesis. *Blood*. 2021;(5):1565-1575.
- Komrokji RS. Luspatercept in Myelodysplastic Syndromes: Who and When? *Hematol Oncol Clin North Am*. 2020; 4(2):393-400.
- Valent P, Büsche G, Theurl I y col. Normal and pathological erythropoiesis in adults: from gene regulation to targeted treatment concepts. *Haematologica*. 2018;103(10):1593-603.
- Fenaux P, Kiladjan JJ and Platzbecker U. Luspatercept for the treatment of anemia in myelodysplastic syndromes and primary myelofibrosis. *Blood*. 2019;133:790-794.
- Verma A, Suragani RNVS, Aluri S y col. Biological basis for efficacy of activin receptor ligand traps in myelodysplastic syndromes. *J Clin Invest*. 2020;130(2):582-589.
- Markham A. Luspatercept: First Approval. *Drugs*. 2020;80:85-90.
- Celgene Corporation. Highlights of prescribing information for REBLOZYL (luspatercept-aamt). Revised November 2019. [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2019/761136lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/761136lbl.pdf). November 2020.
- Kenneth M. A, Mark J. Allison, McClure T. A phase I study of ACE-536, a regulator of erythroid differentiation, in healthy volunteers. *American Journal of Hematology*. 2014;89:766-770.
- Platzbecker U, Germing U, Götze KS y col. Luspatercept for the treatment of anaemia in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes. (PACE-MDS): a multicentre, open-label phase 2 dose-finding study with long-term extension study. *Lancet Oncol*. 2017;18(10):1338-1347.
- Fenaux P, Platzbecker U, Mufti GJ y col. Luspatercept in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med*. 2020;382(2):140-151.
- Zeidan AM, Platzbecker U, García-Manero G y col. Longer-term benefit of luspatercept in transfusion-dependent lower-risk myelodysplastic syndromes with ring sideroblasts. *Blood*. 2022 Jul 7: blood.2022016171.
- Cappellini MD, Viprakasit V, Taher AT y col. BELIEVE Investigators. A phase 3 trial of luspatercept in patients with transfusion-dependent  $\beta$ -thalassemia. *N Engl J Med*. 2020;382(13):1219-1231.
- Komrokji RS, Platzbecker U, Fenaux P. Luspatercept for myelodysplastic syndromes/myeloproliferative neoplasm with ring sideroblasts and thrombocytosis Leukemia. 2022;36:1432-1435.
- Fenaux P, Santini V, Komrokji RS y col. Long term utilization and benefit of luspatercept in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes from MEDALIST trial. *HemaSphere*. 2022;6:(S3).



**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.

# Metahemoglobinemia recesiva congénita. A propósito de un caso

## Congenital recessive methemoglobinemia. Case report

Eandi Eberle S, Chaves A, Pepe C, Dieuzeide MP, Fernández D, Novello F, Ávalos Gómez V.

*Servicio de Hematología - Oncología, Hospital de Pediatría "Profesor Doctor Juan Pedro Garrahan", Buenos Aires.*

seandi@garrahan.gov.ar  
vavalos@garrahan.gov.ar

Fecha recepción: 29/3/2022  
Fecha aprobación: 29/3/2022



**PEDATRÍA**

HEMATOLOGÍA  
Volumen 26 n° 2:97-100  
Mayo - Agosto 2022

**Palabras claves:** metahemoglobinemia,  
cianosis,  
NADH citocromo b5 reductasa.

**Keywords:** methemoglobinemia,  
cyanosis,  
NADH cytochrome b5 reductase.

### Resumen

La metahemoglobinemia es una condición caracterizada por la presencia de altas concentraciones de metahemoglobina en sangre, la cual es incapaz de liberar oxígeno a los tejidos. Es una entidad poco frecuente, con baja sospecha diagnóstica, y puede ser adquirida o hereditaria. Dentro de las formas hereditarias, se encuentran la hemoglobina M y la metahemoglobinemia recesiva congénita. Ésta última causada por el déficit de la enzima NADH citocromo b5 reductasa (B5R), como consecuencia de alteraciones bialélicas en el gen *CYB5R3*.

Reportamos las características clínicas, hematológicas y moleculares de una recién nacida con diagnóstico de deficiencia de B5R. La niña presentó cianosis en las primeras horas de vida, con niveles elevados de metahemoglobina. Luego de descartar las causas pulmonares, cardíacas, infecciosas y adquiridas se arribó al diagnóstico por la secuenciación del gen *CYB5R3*. Resaltamos la importancia de reconocer la causa de la metahemoglobinemia para dar un tratamiento y consejo genético adecuados.

### Abstract

Methemoglobinemia is a condition characterized by the presence of high concentrations of methemoglobin in blood, which is unable to release oxygen to the tissues. It is a rare entity, with low diagnostic suspicion, and can be acquired or hereditary. Among the hereditary forms, there are hemoglobin M and congenital recessive methemoglobinemia. The latter is caused by a deficiency of the enzyme NADH cytochrome b5 reductase (B5R), as a consequence of biallelic alterations in the *CYB5R3* gene. We report the clinical, hematologic and molecular characteristics of a newborn with a diagnosis of B5R deficiency. The infant presented with cyanosis in the first hours of life and elevated methemoglobin levels. After ruling out pulmonary, cardiac, infectious and other acquired causes, the diagnosis was reached by *CYB5R3* gene sequencing. We emphasize the importance of recognizing the cause of methemoglobinemia in order to provide adequate treatment and genetic counseling.

## Introducción

La metahemoglobina (metaHb) se produce como consecuencia de la oxidación del hierro divalente del anillo de la protoporfirina del grupo prostético del hemo a hierro férrico. La metaHb tiene una menor capacidad de entregar oxígeno a los tejidos, lo que provoca hipoxia tisular. La presencia del hierro en estado férrico da como resultado cambios alostéricos que determinan la unión del oxígeno a la hemoglobina de manera irreversible. Ocurre un desplazamiento de la curva de disociación de la hemoglobina hacia la izquierda, con la consiguiente menor entrega de oxígeno a los tejidos e hipoxia tisular<sup>(1)</sup>. Los niveles de metaHb en sangre están determinados por el balance entre su producción, auto-oxidación y su reducción enzimática. En condiciones normales, la concentración de metaHb no supera el 1% y su aumento puede ser secundario a causas adquiridas o hereditarias<sup>(2)</sup>. Dentro de las formas hereditarias, se encuentra la hemoglobina M y la metahemoglobinemia recesiva congénita (MRC). La presencia de hemoglobina M es consecuencia de alteraciones moleculares en alguno de los genes que codifican para las cadenas de alfa, beta o gama globina<sup>(3)</sup>. La MRC es causada más frecuentemente por el déficit de la enzima NADH citocromo b5 reductasa 3 (B5R) y, raramente, por alteraciones en la proteína microsomal citocromo b5 tipo A<sup>(4,5)</sup>.

Se reconocen dos formas clínicas principales de MRC: tipo I: presenta cianosis desde el nacimiento sin otras manifestaciones clínicas asociadas, y tipo II: presenta cianosis desde el nacimiento, deterioro neurológico progresivo y una expectativa de vida disminuida. Ambos tipos de MRC son consecuencia de alteraciones moleculares bialélicas en el gen *CYB5R3*. Este gen codifica para la enzima metahemoglobina reductasa dependiente de NADH, encargada de reducir la metahemoglobina a hemoglobina. La MRC tipo I es un desorden raro con frecuencias de hasta 1: 1000 en algunas poblaciones aisladas con mutaciones fundadoras<sup>(6)</sup>.

El objetivo de este trabajo es presentar las características clínicas y el abordaje diagnóstico de una paciente con MRC tipo I que se presentó en el Servicio de Hematología - Oncología del Hospital de Pediatría Dr. J. P. Garrahan.

## Caso clínico

Niña de un mes y medio de vida, de ascendencia

criolla-española, derivada para estudio de su metahemoglobinemia. Primera hija de un matrimonio no consanguíneo, nacida a término por cesárea, luego de un embarazo normal. Presentó cianosis antes de las primeras 24 horas de vida, motivo por el cual ingresó a la neonatología con indicación de oxigenoterapia. Se le realizó evaluación cardiológica y pulmonar, no presentó aumento de saturación con el aporte de oxígeno. Se realizaron: Rx de tórax, ecografía abdominal, cerebral y ecocardiograma con resultados normales. Se descartó exposición exógena a sustancias oxidantes durante el interrogatorio. Ante la persistencia de la cianosis se sospechó metahemoglobinemia y se solicitó su determinación, obteniéndose una metaHb de 27,2%. Se le indicó tratamiento con ácido ascórbico endovenoso por 7 días. Con una metaHb de 4,7% se suspendió el tratamiento y se asumió un cuadro de cianosis transitoria. Cuatro días después la niña volvió a presentar cianosis, con una metaHb de 11,8%, motivo por el cual reinició el tratamiento con ácido ascórbico, primero endovenoso y luego oral. Al mes y medio de vida fue derivada a esta institución para el estudio de las causas de la metahemoglobinemia.

El laboratorio inicial reveló la presencia de una anemia ligera con índices hematimétricos y frotis de sangre periférica normal. La electroforesis capilar de hemoglobina a pH alcalino no evidenció bandas anómalas y la cuantificación de las hemoglobinas fue normal de acuerdo a la edad. La prueba de Brewer, la curva de fragilidad osmótica y los marcadores de hemólisis fueron normales. La concentración porcentual de metaHb fue de 12,1%. El estudio convencional de patología eritrocitaria de ambos padres fue normal, como así también los niveles de metahemoglobina.

Ante estos hallazgos, habiendo descartado las causas adquiridas, pulmonares y cardíacas de metahemoglobinemia, como así también enfermedad por hemoglobina M (herencia dominante) se planteó el diagnóstico de MRC. Se procedió a realizar el estudio molecular del gen más frecuentemente alterado: *CYB5R3*, hallándose dos variantes bialélicas reportadas previamente<sup>(6)</sup>. Ambas variantes son de tipo *missense*, NM\_000398.7: c.[181C>T]; [637G>A]. La variante c.181C>T afecta un residuo de arginina en posición 61 que es reemplazado por una cisteína, y el cambio c.637G>A altera la posición 213 donde se reemplaza un ácido glutámico por una lisina.

Para determinar la patogenicidad de las variantes se siguieron las recomendaciones de la guía ACMG (*American College of Medical Genetics*)<sup>(7)</sup>, a partir de la cual ambas alteraciones fueron clasificadas como probablemente patógenas, lo que permitió la confirmación de la sospecha diagnóstica. La tabla 1 muestra los resultados de laboratorio.

### Discusión

La metahemoglobinemia puede resultar de procesos adquiridos o hereditarios. Las formas adquiridas son las más comunes, principalmente debido a la exposición a sustancias que causan la oxidación de la hemoglobina directa o indirectamente. Las formas hereditarias se deben más frecuentemente a variantes bialélicas en el gen *CYB5R3* o variantes dominantes en los genes de globina (hemoglobina M). El diagnóstico diferencial debe incluir una historia clínica y familiar detallada, la evaluación de consanguinidad y el análisis de exposición a drogas o toxinas. En las formas adquiridas, la cianosis generalmente es de origen reciente y transitoria mientras que en las causas hereditarias se presenta desde el nacimiento y persiste a lo largo de toda la vida. Siempre, en primera instancia, debe descartarse la presencia de alteraciones pulmonares y cardíacas como posibles causas de cianosis.

La MRC es un desorden raro que se caracteriza por presentar cianosis desde el nacimiento. Hay dos formas clínicas más frecuentes de MRC, tipo I y tipo II, ambas causadas por el déficit de la enzima B5R. La enzima B5R existe en dos isoformas. La forma soluble, presente en los eritrocitos, está involucrada en el sistema de transporte de electrones que reduce la metaHb a hemoglobina. La forma unida a membrana del retículo endoplásmico está presente en todos los tejidos excepto en los eritrocitos y participa en una variedad de reacciones metabólicas tales como la desaturación y elongación de ácidos grasos, biosíntesis de colesterol y metabolismo de drogas dependientes de las enzimas citocromo P450<sup>(6)</sup>. Ambas formas son producidas por un solo locus genético (*CYB5R3*) localizado en el cromosoma 22 (22q13.2). A diferencia de la forma que se une a membrana, la forma soluble carece del dominio de unión a membrana compuesto por 25 aminoácidos. Existen más de 80 variantes identificadas en el gen *CYB5R3* y la

correlación geno-fenotípica de esta enfermedad ya ha sido descrita<sup>(8)</sup>.

En la MRC tipo I prevalecen las variantes que causan inestabilidad de la forma soluble e incrementan los niveles de metaHb en los eritrocitos. Las variantes que inactivan tanto la isoforma soluble como la unida a membrana se observan en los casos de MRC tipo II.

La MRC tipo I es benigna. La cianosis suele ser bien tolerada y sólo causa complicaciones leves como cefalea, fatiga y dificultad respiratoria al realizar actividad física. En contraste, la MRC tipo II es más severa con disfunción neurológica progresiva y con una expectativa de vida de dos años<sup>(9)</sup>.

Los pacientes con MRC tipo I exhiben niveles de metahemoglobina de alrededor del 20 al 30%. La cianosis predomina en labios, nariz, cuello, mucosa bucal y no mejora con el aporte de oxígeno. Se han descrito casos de pacientes con cefalea, taquicardia y disnea leve, atribuidos a una reducción de la oxigenación en la sangre y posiblemente a una eritrocitosis leve asociada<sup>(10)</sup>.

Existe una correlación directa entre los niveles de metaHb y los síntomas, lo que determinará el tratamiento, que consiste en el aporte de un agente reductor como el azul de metileno o el ácido ascórbico. El aporte de oxígeno suplementario de alto flujo es efectivo para elevar los niveles de oxígeno en plasma<sup>(11)</sup>.

Presentamos el caso de una recién nacida con cianosis, sin historia familiar, a quien se le descartan causas adquiridas, patología pulmonar y cardíaca. El hallazgo de una metahemoglobina aumentada permite plantear el diagnóstico de metahemoglobinemia hereditaria. El estudio de patología eritrocitaria normal así como la cuantificación normal de metaHb en los padres descartan la presencia de una hemoglobina M. Se plantea el diagnóstico de MRC que fue avalado por el hallazgo de dos variantes en el gen *CYB5R3*.

Concluimos que la cianosis suele hallarse en pediatría asociada a enfermedades cardiopulmonares y adquiridas. Descartando estas causas deben sospecharse formas hereditarias como la MRC. La confirmación de la sospecha diagnóstica es molecular, permitiendo el consejo genético familiar y una terapéutica adecuada.

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

### Bibliografía

1. Wright RO, Lewander WJ, Woolf AD. Methemoglobinemia: etiology, pharmacology, and clinical management. *Ann Emerg Med.* 1999;34:646-656.
2. Jaffe ER. Methemoglobin pathophysiology. *Prog Clin Biol Res.* 1981; 51:133-151.
3. Steinberg MH, Nagel RL. Unstable Hemoglobins, Hemoglobins with Altered Oxygen Affinity, Hemoglobin M, and Other Variants of Clinical and Biological Interest. *Disorders of Hemoglobin. Genetics, Pathophysiology, and Clinical Management.* Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR, Weatherall DJ 2009, p589-606. Cambridge University Press, London.
4. Agarwal N, Nagel RL, Prchal JT. Dyshemoglobinemias. *Disorders of Hemoglobin. Genetics, Pathophysiology, and Clinical Management.* Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR, Weatherall DJ, 2009, p 607-622. Cambridge University Press, London.
5. Leung MT, Cheung HN, Iu YP, Choi CH, Tiu SC, Shek CC. Isolated 17,20-Lyase Deficiency in a CYB5A Mutated Female with Normal Sexual Development and Fertility. *J Endoc Soc.* 2020; 4:1-8.
6. Gupta V, Kulkarni A, Waranag P, Devendra R, Chid-darwar A, Kedar P. Mutation update: Variants of CYB5R3 gene in recessive congenital methemoglobinemia. *Hum Mutat.* 2020; 41:737-7487.
7. Richards S, Aziz N, Bale S y col. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetic Med.* 2015;17:405-423.
8. Iolascon A, Bianchi P, Andolfo I y col. Recommendations for diagnosis and treatment of methemoglobinemia. *Am J Hematol.* 2021;96:1666-1678.
9. Percy MJ, Lappin TR. Recessive congenital methemoglobinemia: cytochrome b5 reductase deficiency. *Brit J Haematol.* 2008;141:298-308.
10. Manal Nicolas-Jilwan. Recessive congenital methemoglobinemia type II: Hypoplastic basal ganglia in two siblings with a novel mutation of the cytochrome b5 reductase gene. *Neuroradiol J.* 2019;32:143-147.
11. Cooper MS, Randall M, Rowell M, Charlton, Charlton M, Greenway A, Barnes C. Congenital methemoglobinemia type II-clinical improvement with short-term methylene blue treatment. *Pediatr Blood Cancer.* 2016; 63: 558-560.



**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.

# Inmunofijación en diferentes líquidos biológicos. Requisitos de las etapas preanalítica, analítica y posanalítica para su realización y correcta interpretación.

Immunofixation in different biological fluids. Requirements of the pre-analytical, analytical and post-analytical stages for its correct performance and interpretation.

Alejandro, ME<sup>1-2</sup>; Facio, ML<sup>1</sup>; Viniegra, J<sup>1</sup>; García M<sup>1</sup>; Barakian BF<sup>1</sup>; Madalena, LB<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Laboratorio de Proteínas del Hospital de Clínicas José de San Martín. Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup> Laboratorio de Análisis Proteicos Especializados. Centro de Hematología Pavlovsky. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

marielalejandre@hotmail.com

Fecha recepción: 18/8/2022  
Fecha aprobación: 25/8/2022



LABORATORIO

HEMATOLOGÍA  
Volumen 26 n° 2: 101-106  
Mayo - Agosto 2022

**Palabras claves:** inmunofijación, gammapatías monoclonales, remisión completa.

**Keywords:** immunofixation, monoclonal gammopathies, complete remission.

## Fundamento

El laboratorio de proteínas utiliza métodos muy diferentes con el objeto de brindar información diagnóstica, pronóstica y de seguimiento en pacientes con cierto tipo de afecciones. Estos métodos incluyen pruebas para evaluar un conjunto de analitos en simultáneo, como el proteinograma electroforético o la inmunolectroforesis con antisueros poliespecíficos, pruebas para la cuantificación de proteínas individuales y pruebas para identificar un analito, como la inmunolectroforesis con antisueros monoespecíficos o, con mayor eficiencia, la electroinmunofijación (IFx)<sup>(1)</sup>.

La técnica de IFx se basa en que las proteínas se separan en base a su movilidad electroforética y luego se aplica un antisuero específico para el antígeno en estudio. Donde se encuentra el antígeno y su anticuerpo homólogo, se forma una banda o zona de precipitación (de acuerdo al origen clonal del antígeno), visible luego de la tinción desarrollada.

## Características preanalíticas

Es posible realizar la técnica de IFx tanto en muestras de suero como en orina y líquido cefalorraquídeo (LCR).

Muestra de suero: es la muestra sanguínea de

elección. El plasma está desaconsejado ya que contiene factores de coagulación, fundamentalmente el fibrinógeno que, por su concentración relativamente elevada (entre 2 y 4 g/L en individuos sanos), no sólo incrementa la proteinemia sino que resulta ser un interferente debido a que se lo observa como una banda homogénea en la zona  $\gamma$  globulina (en soportes sólidos como acetato de celulosa y agarosa) o en la zona beta-2 (en la electroforesis capilar) del proteinograma, que puede confundirse fácilmente con un componente monoclonal (CM).

Muestra de orina: se requiere orina de 24 hs de recolección debido a que la excreción de proteínas en orina no es constante. El paciente debe descartar la primera orina de la mañana y comenzar desde ese momento a juntar todas las micciones hasta la primera orina de la mañana del día siguiente y llevar la totalidad de la orina recolectada al laboratorio. Es aconsejable colocar la orina en envases de plástico vacíos de agua mineral, dejar los mismos en heladera mientras se están juntando las diversas micciones hasta su traslado al laboratorio, para su correcta conservación.

Muestra de LCR: se obtiene por punción aspiración lumbar, debe remitirse refrigerada al laboratorio y acompañada de una muestra de suero del paciente, recolectada en un lapso no mayor a cuatro horas desde la obtención del LCR, para el procesamiento en paralelo de las mismas.

Todas las muestras se procesan en el día o se conservan refrigeradas a 2-8°C hasta su procesamiento.

### Características analíticas

Es posible realizar la IFx en geles de agarosa, de forma automatizada, en equipos como el HYDRASYS de Sebia o INTERLAB G-26. Se debe proceder según las instrucciones del fabricante, teniendo en cuenta variables dependiendo si se utilizan kits para realizar la IFx en suero o la IFx en muestras de orina de 24 hs de recolección. En líneas generales, el procedimiento consiste en colocar en el equipo la placa de agarosa, las muestras de los pacientes y los antisueros a ensayar, programar las diluciones deseadas para cada muestra y dar comienzo a la sucesión de los pasos técnicos que, en el lapso de una hora aproximadamente, culminarán en la resolución de cuatro IFx por cada placa de agarosa empleada. Dichos pasos incluyen la siembra de las muestras, la corrida electroforética, la aplicación de antisueros y su respectiva incubación y el proceso de lavado, coloración, decoloración y secado final del gel.

Algunos laboratorios cuentan además con la posibilidad de realizar IFx mediante técnica manual, en geles de acetato de celulosa gelatinizado, utilizando tinción de Coomassie para IFx en muestras de suero y tinción ultrasensible de plata coloidal para IFx en muestras de LCR y orina, siendo esta coloración la que permite trabajar líquidos biológicos de baja concentración de proteica, sin necesidad de concentración previa de los mismos<sup>(2)</sup>.

La siguiente tabla nos muestra los diversos reactivos, y las instrucciones de uso y conservación, necesarios para la realización de IFx mediante procedimiento manual.

Reactivo	Composición	Instrucciones de uso	Conservación
Acetato de celulosa de 5.7x14 o de 2.5x17. Marca Cellogel o PROGEL	Tiras de acetato de celulosa gelatinizado embebidas en solución conservante de alcohol metílico al 40%	Embeber en <i>buffer</i> veronal sódico de corrida durante 10 minutos y usar	Temperatura ambiente. Estable hasta fecha de vencimiento indicada en el envase
Azul de bromofenol	$C_{19}H_{10}Br_4O_5S$	Punta de espátula de la droga sólida, diluida en alcohol etílico	Temperatura ambiente. Estable hasta fecha de vencimiento indicada en el envase
Coloración con plata coloidal	Ver preparación en a) coloración de plata coloidal	Listo para usar	Temperatura ambiente
Coloración con Coomassie Brilliant Blue R250	Ver preparación en b) Coloración de Coomassie	Listo para usar	Temperatura ambiente
Antisueros comerciales marca HELENA o SEBIA o BIOCIENTIFICA	Antisueros mono-específicos	Listo para usar	Conservar en congelador hasta su apertura y posteriormente en heladera a 4°C.

a) Coloración de plata coloidal

- Reactivo ferroso

Para 500 ml:

Reactivo	Cantidad
Sulfato ferroso	3,95 g
Citrato de sodio	8,5 g
Tween 20 0.25%	1,25 ml
Agua destilada	csp

Nota: El reactivo se prepara y conserva a temperatura ambiente. Se fracciona el contenido en 20 frascos de 25 ml color caramelo y se almacena al abrigo de la luz, ya que el reactivo es fotosensible. Se utiliza 1 frasco para cada coloración.

- Reactivo de plata

Para 100 ml:

Reactivo	Cantidad
Nitrato de plata	19,5 g
Agua destilada	csp

Nota: El reactivo se prepara y conserva a temperatura ambiente. Se fracciona el contenido en 4 frascos de 25 ml color caramelo y se almacena al abrigo de la luz, ya que el reactivo es fotosensible. Se utilizan 5-6 gotas para cada coloración.

- Reactivos de contracolor para la tinción con plata

Para 1 litro:

Reactivo 1	Cantidad
Acido oxálico	12 g
Agua destilada	csp
Reactivo 2	Cantidad
Tricloruro férrico	48 g
Agua destilada	csp
Reactivo 3	Cantidad
Potasio ferricianuro	11 g
Agua destilada	csp

Nota: Los reactivos se preparan y conservan a temperatura ambiente en frascos de 1 litro color caramelo. Para la contra-coloración se mezclan 15 ml de cada reactivo en el momento que se va a utilizar.

- Fijador

Para 1 litro:

Reactivo	Cantidad
Ácido sulfosalicílico	50 g
Ácido tricloroacético	110 g
Agua destilada	csp

Nota: El reactivo se prepara y conserva a temperatura ambiente en un recipiente de plástico

b) Coloración con Coomassie

Para 500 ml:

Reactivo	Cantidad
Coomassie Brilliant Blue R250	5 g
Ácido acético glacial (Mallinckrodt)	25 ml
Alcohol etílico (uso medicinal)	237,5 ml
Agua corriente	237,5 ml

Nota: El reactivo se prepara y conserva a temperatura ambiente, en una botella de alcohol vacía y seca. Una vez realizada la coloración, el reactivo se recupera en la misma botella. Posee una vida media de 3 meses.

Procedimiento para realizar IFx mediante técnica manual en gel de acetato de celulosa gelatinizado:

- Se realiza según el método de Pizzolato y col.<sup>(3)</sup>.
- Se cumplen todas las precauciones de bioseguridad en el procedimiento.
- Se preparan y ordenan las muestras a ser analizadas de acuerdo a las listas de trabajo.
- Tomar con una pinza el extremo las tiras de acetato de celulosa gelatinizado que se encuentran en solución de metanol al 40% y eliminar el exceso de metanol, absorbiendo las tiras entre dos hojas de papel de filtro.
- Sumergir las tiras en el *buffer* de corrida (veronal sódico) durante 5-10 minutos como mínimo. Las tiras que no se utilicen volverlas a la solución conservante.
- Eliminar el exceso de *buffer* con papel de filtro como en el paso anterior y rotular las tiras con marcador indeleble.
- Cargar la cuba de electroforesis con el *buffer* y colocar el soporte de plástico con los puentes de papel de filtro.

- Extender las tiras sobre el soporte de plástico en la cuba electroforética, con la superficie activa del gel hacia arriba (corresponde a la superficie opaca de la tira).

- En una placa que contenga gotas del colorante azul de bromofenol disecadas (para evitar diluciones de las muestras) colocar una gota de los sueros, LCR u orinas a sembrar, sobre cada una de las marcas de colorante seco. Éste se une a la albúmina de la muestra coloreándola de azul y actuando como marcador de frente de corrida (por ser la albúmina la proteína más anódica).

- Sembrar las muestras en seis calles, una calle control y las otras cinco calles donde se ensayarán cada antisuero monoespecífico en cuestión.

1-Fijación de sueros: se siembra en la primer calle el suero puro de cada paciente y ésta será la calle control a la que se le agregará el fijador. En el resto de las calles en las que se ensayarán los distintos antisueros monoespecíficos se sembrará una dilución del suero, de manera tal que se logre la precipitación del complejo antígeno-anticuerpo, por llegar a la zona de equivalencia.

2-Fijación de orinas: se siembra en la primera calle la orina pura de cada paciente y ésta será la calle control a la que se le agregará el fijador. En el resto de las calles en las que se ensayarán los distintos antisueros monoespecíficos, se sembrará la orina pura o una dilución de la misma, de manera tal que se logre la precipitación del complejo antígeno-anticuerpo, por llegar a la zona de equivalencia.

- Efectuar la siembra de las muestras en cuestión, de acuerdo al esquema dispuesto y utilizando el sembrador semimicro. ubicando la misma en el cátodo (polo negativo).

- Conectar la cuba a la fuente de poder para efectuar la migración electroforética.

Condiciones de corrida: a voltaje constante de 180 voltios (3-5 mA/ tira), se genera aproximadamente 1 mA por centímetro de ancho de tira. Duración de la corrida en estas condiciones: alrededor de 30 minutos.

- Se interrumpe la corrida y se agrega el antisuero correspondiente en la zona de interés a investigar.

Nota: para la calle control se utiliza solución fijadora. Dejar difundir los antisueros durante 15 minutos en cámara húmeda.

a) Lavado y coloración de tiras de IFx en suero

- Lavar las tiras con solución fisiológica y agitación.

Se realizan 6 lavados de 15 minutos cada uno. El tiempo total de lavado debe ser de 1.5 hs como mínimo.

- Una vez finalizado el lavado colocar las tiras en el colorante *Coomassie brilliant blue*, durante 5 minutos.

- Decolorar con 2 baños (de 15 minutos cada uno) de decolorante (mezcla etanol-ácido cítrico-agua) para obtener una clara visualización de las bandas de precipitación (de color azul-violáceo) sobre un fondo claro.

- Realizar la evaluación cualitativa final en conjunto con los antecedentes del paciente<sup>(4,5)</sup>.

b) Lavado y coloración de tiras de IFx en LCR y orina

- Lavar las tiras con solución fisiológica y agitación. Se realizan 6 lavados de 15 minutos cada uno. El tiempo total de lavado debe ser de 1.5 hs como mínimo.

- Luego lavar las tiras con agua destilada y agitación para eliminar la solución fisiológica que impregna las tiras. Se realizan 5 lavados de 15 minutos cada uno. El tiempo total del lavado debe ser de 1 hora y 15 minutos como mínimo.

- Teñir las tiras con la técnica de coloración argéntica y agitación constante, hasta visualización de bandas. El reactivo de coloración con plata se prepara en el momento. Se mezclan 25 ml de reactivo ferroso más 5-6 gotas de reactivo de plata.

- Se sacan las tiras del colorante y se colocan en agua destilada con agitación

- Se procede a la evaluación cualitativa inicial junto con la corrida control.

- Luego se realiza la contra-coloración según la técnica de Berson (mezcla de cloruro férrico, ferricianuro de potasio y ácido oxálico) que aumenta 10 veces la sensibilidad de la coloración, preparando la mezcla en el momento. Se sumergen las tiras unos segundos hasta obtener la visualización de las fracciones proteicas (de color azul) sobre un fondo claro.

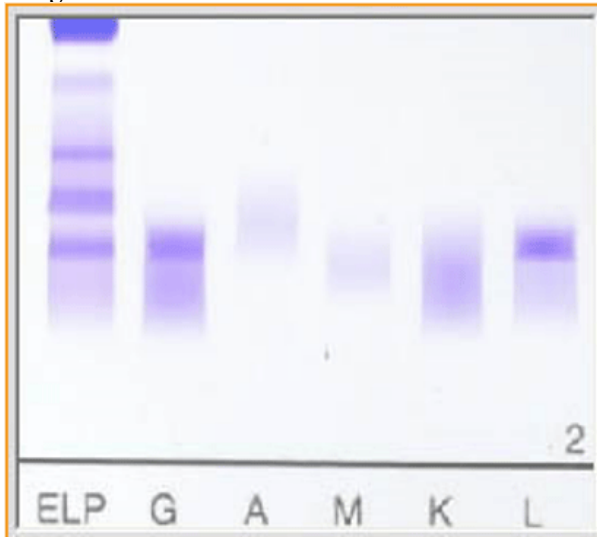
- Realizar la evaluación cualitativa final en conjunto con los antecedentes del paciente<sup>(5)</sup>.

### Utilidad clínica

La IFx se utiliza para identificar proteínas particulares, como un CM, a través de conocer su tipo de cadena pesada y liviana (Figura 1) o para identificar interferencia como el fibrinógeno, cuando se observa la presencia de una banda homogénea en la zona

$\beta$ - $\gamma$  globulina en el proteinograma electroforético de control y se hace necesario descartar la presencia de un CM.

**Figura 1.** Paciente con un CM en suero de tipo IgG-lambda, tipificado por IFx automatizada en gel de agarosa.



También puede utilizarse como prueba cualitativa para determinar la presencia de una proteína no cuantificable por inmunoensayos, como la haptoglobina en la hemoglobinuria paroxística nocturna<sup>(4,5)</sup>. Es especialmente apta para resolver casos difíciles, como por ejemplo:

- Establecer la identidad inmunológica de gammapatías biclonales.

- Establecer la identidad inmunológica de CM de baja concentración.
  - Definir la remisión completa de la enfermedad, dependiente de confirmar la desaparición por IFx del CM original del paciente, gracias a la terapia aplicada.
  - Definir patrones de oligoclonalidad en la región de las  $\gamma$ -globulinas, como las bandas oligoclonales que suelen aparecer en el LCR de individuos con esclerosis múltiple.
  - Detectar interferencia que aparecen en las corridas electroforéticas como consecuencia del uso de anticuerpos monoclonales terapéuticos, por ejemplo en pacientes con Mieloma Múltiple (MM)<sup>(6)</sup>, o por artefactos que responden a su unión a proteínas plasmáticas, como la albúmina, que los transporta en sangre.
  - Estudiar los perfiles electroforéticos atípicos en pacientes con MM sometidos a trasplante autólogo de médula ósea (TAMO), permitiendo detectar la presencia y estudiar la identidad inmunológica de múltiples bandas homogéneas (bandas oligoclonales) pos-TAMO (marcador de buen pronóstico) y establecer la clasificación adecuada según la guía de criterios de respuesta al tratamiento aplicado<sup>(7)</sup>.
- Finalmente, y en base a lo antes mencionado, resulta fundamental para la interpretación adecuada de los resultados de la IFx, que el bioquímico tenga conocimiento del estado general del paciente en el momento de la toma de muestra, siendo aconsejable contar con los datos del tratamiento realizado y la medicación que recibe.

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

### Bibliografía

1. Whicher JT. Immunofixation on cellulose acetate is more efficient than immunoelectrophoresis for detection of paraproteins. *Clin Chem*. 1983;29(2):402-3.
2. García M, Madalena L, Bragantini G et al. Electroinmunofijación de orinas sin concentrar por coloración con metales pesados. *Acta Bioquím Clín Latinoam*. 1996;30 (3):215-20.
3. M. Pizzolato, F. Goñi, R. Salvarezza. Immunofixation on cellulose acetate: an improved screening method for monoclonal immunoglobulines. *Inmunological Methods*. 1979;26,365.
4. Gurmukh Singh. The Ins and Outs of Reporting SPEP Findings. *Ask the Expert*: May 2021. *Clinical Laboratory News*. 2021.
5. García M, Madalena L, Gasparini S, Bresciani P, Alejandre M, Facio ML. Módulo 2: Buenas prácticas en el Laboratorio de Proteínas. Capítulo 4. Proceso analítico. 4.8. Métodos de identificación de proteínas. *El laboratorio de proteínas: conceptos sobre calidad analítica y buenas prácticas*. Editorial Eudeba. 2017.157-164.
6. Murata K, McCash S, Carroll B et al. Treatment of multiple myeloma with monoclonal antibodies and the dilemma of false positive M-spikes in peripheral blood. *Clin Biochem*. 2018. Jan;51:66-71.
7. Alejandre ME, Madalena LB, Pavlovsky MA et al. Oligoclonal bands and immunoglobulin isotype switch during monitoring of patients with multiple myeloma and autologous hematopoietic cell transplantation: a 16-year experience. *Clin Chem Lab Med*. 2010; 48(5):727-31.



**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.

# Linfoma no Hodgkin T/NK de nariz

Nasal T/NK non-Hodgkin's lymphoma

Pertiné B<sup>1</sup>; Milone G<sup>1</sup>; Ávila J<sup>1</sup>; Muratore A<sup>1</sup>; Henry N<sup>1</sup>; Herrera M P<sup>2</sup>;  
Rivero M F<sup>2</sup>; Petersen E<sup>3</sup>; Dib J<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Hematología, IMAC, Salta, Argentina.

<sup>2</sup> Servicio de Infectología, IMAC, Salta, Argentina.

<sup>3</sup> Servicio de Cirugía Plástica, IMAC, Salta, Argentina.

<sup>4</sup> Centro Integral de Nariz, Garganta y Oído, Salta, Argentina.

bpertine@gmail.com

Fecha recepción: 25/7/2022

Fecha aprobación: 6/9/2022



IMAGENES  
EN HEMATOLOGÍA

HEMATOLOGÍA  
Volumen 26 n° 2: 107-110  
Mayo - Agosto 2022

**Palabras claves:** linfoma T/NK,  
DDGP,  
trasplante de médula ósea.

**Keywords:** T/NK lymphoma,  
DDGP,  
bone marrow transplant

## Resumen

El linfoma no Hodgkin T/NK nasal es una variante rara y agresiva de linfoma no Hodgkin. Las quimioterapias tipo CHOP son las más frecuentemente utilizadas para el tratamiento. Sin embargo, en los últimos años han aparecido reportes de esquemas diferentes seguidos de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, con resultados promisorios. Reportamos el caso de un paciente con linfoma no Hodgkin T/NK nasal que recibió tratamiento con esquema DDGP seguido de trasplante autólogo de médula ósea.

## Abstract

Nasal T/NK non-Hodgkin's lymphoma is a rare and aggressive variant of non-Hodgkin's lymphoma. CHOP based chemotherapy is the most frequent treatment. However, during the last years there have been reports of different chemotherapy regimens, followed by high dose chemotherapy with stem cell support, with promising results. We report the case of a male patient with nasal T/NK non-Hodgkin's lymphoma, treated with DDGP regimen, followed by autologous bone marrow transplant.

## Introducción

El linfoma no Hodgkin T/NK nasal (ENKL) es un linfoma extranodal, asociado a infección por virus de Epstein-Barr, frecuente en países asiáticos y en Sudamérica. Compromete las fosas nasales y el tracto aerodigestivo superior. La variante no nasal en general compromete piel, testículos y tracto gastrointestinal. Una tercera variante, leucemia/linfoma agresivo, compromete la médula ósea e infiltra otros órganos.

El tratamiento con el esquema CHOP se considera subóptimo, ya que las células NK expresan la glicoproteína P de resistencia a multidrogas (*MDR P-glicoprotein*), haciendo que el antracíclico pierda efecto.

En la última década se desarrollaron otros esquemas como el SMILE<sup>(1)</sup> (dexametasona, ifosfamida, metotrexate, L-asparaginasa y etopósido) y posteriormente el DDGP (dexametasona, cisplatino, gemcitabina y PEG-asparaginasa)<sup>(2)</sup>, que demostró menor toxicidad, mayor sobrevida libre de enfermedad y sobrevida global.

El trasplante autólogo de células progenitoras hemopoyéticas (CPH) como consolidación en primera

línea es objeto de debate, sobre todo para los estadios tempranos I y II<sup>(3)</sup>.

## Caso clínico

Paciente de 44 años. En julio de 2021 consultó por lesión en fosa nasal izquierda, dolorosa y sangrante, que dificultaba la respiración y se extendía a la piel de la nariz (Figura 1). Se realizó rinoscopia con biopsia de cornete, cuyo resultado reveló un linfoma de células T/NK nasal, siendo su inmunohistoquímica:

- CD3+ en población linfoide de núcleos medianos a grandes.
- CD 10 y CD20+ en escasos linfocitos maduros acompañantes.
- BCL-2+
- CD56+
- Ki-67+ 60%

La punción de médula ósea y el LCR fueron negativos para enfermedad y la tomografía computada con contraste descartó otras adenomegalias. Debido a su regular estado general, no pudo viajar para realizar un PET TC inicial.

**Figura 1.**



Recibió 4 ciclos de esquema DDGP más profilaxis triple intratecal en todos ellos. Se realizó además toilette quirúrgica de la costra de la piel de la nariz a cargo del Servicio de Cirugía Plástica. Tuvo excelente tolerancia a la quimioterapia. Como interurrencias presentó neutropenia y fiebre de rápida resolución con antibióticos y G-CSF. El dolor y la dificultad para respirar cedieron rápidamente luego

del primer ciclo de tratamiento (Figura 2).

Luego realizó consolidación con trasplante autólogo de CPH, utilizándose esquema de acondicionamiento con BEC (bendamustina, etopósido, ciclofosfamida)(2). Fue dado de alta al día +12 y continuó con controles ambulatorios. No presenta evidencias clínicas de enfermedad, y el examen otorrinolaringológico continúa siendo normal (Figura 3).

**Figura 2.**



**Figura 3**



## Discusión

El linfoma no Hodgkin T/NK de nariz es una variante extranodal del linfoma T/NK, de gran agresividad. Se considera que el esquema CHOP y sus variantes son insuficientes debido a la resistencia a

los antracíclicos derivada de la glicoproteína-P. Se han desarrollado esquemas de quimioterapia alternativos, como el SMILE y el DDGP, con o sin radioterapia concomitante. El rol del trasplante autólogo en primera línea sigue siendo discutido.

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

## Bibliografía

1. Yamaguchi N, Kwong YL, Kim WS et al. Phase II study of SMILE chemotherapy for newly diagnosed stage IV, relapsed, or refractory extranodal Natural Killer (NK)/T-cell lymphoma, nasal type: the NK-Cell Tumor Study Group study. *J Clin Oncol.* 2011;29(33):4410-4416.
2. Li X, Cui Y, Sun Z et al. DDGP versus SMILE in newly diagnosed advanced natural killer/T-Cell lymphoma: A randomized controlled, multicenter, open-label study in China. *Clin Cancer Res.* 2016;22(21):5223-5228.
3. Terro K, Sharrouf L, El Cheikh J. Progress of hematopoietic stem cell transplantation and radiotherapy in the treatment of extranodal NK/T cell lymphoma. *Front Oncol.* 2022 Feb 16;12:832428.



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

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

La recepción de trabajos se realizará mediante el sistema OJS en la web oficial de la Revista Hematología: [www.revistahematologia.com.ar](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.



## REGLAMENTO DE LA REVISTA HEMATOLOGÍA

HEMATOLOGÍA

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 está 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

Julían 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 HEMATOLOGIA*: [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 Ftirie 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

- 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)



*Doing now what patients  
need next*



Productos Roche S.A.Q. e I. Rawson 3150 (B1610BAL) Ricardo Rojas, Tigre, Pcia. de Buenos Aires. Para obtener mayor información, contactar vía correo electrónico a [argentina.informacion\\_medica@roche.com](mailto:argentina.informacion_medica@roche.com) o al teléfono 0800-77-ROCHE (76243). Impreso en la República Argentina, (2022). Sin valor comercial.

# 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)