

## Thrombocytopenia in the newborn and children

Angela Herman, Pedro A de Alarcón E  
University of Illinois College of Medicine at Peoria

### Introduction

Thrombocytopenia is a common complication of hospitalized newborns and children but is also frequently encountered by outpatient pediatricians evaluating patients for easy bruising and nosebleeds. Immune thrombocytopenia (ITP) and leukemia represent two of the major concerns for primary care physicians when a patient with thrombocytopenia is evaluated; however, rare disorders of platelet function and number must be considered in the differential diagnosis of thrombocytopenia as well. In this report, we will discuss our approach to the diagnosis of thrombocytopenia. Clinically, thrombocytopenia presents most frequently with superficial bruising, petechiae, nosebleeds and menorrhagia. Hemorrhage after surgery, trauma or tooth extraction and more serious hemorrhage like gastrointestinal, urinary or central nervous system bleeding can occur but these manifestations are less frequent in children. Some patients may also present with asymptomatic thrombocytopenia.

Thrombocytopenia can result from decreased platelet production, increased platelet destruction or both. Although newer laboratory tests may suggest one or the other mechanism, there is not, as of yet, a reliable method to determine precisely if thrombocytopenia is due to increased destruction or lack of production. Regardless of the mechanism causing the thrombocytopenia, a systematic approach based on a thorough history, physical examination, and a few laboratory tests can help achieve an accurate diagnosis.

### Definition of thrombocytopenia

The definition of thrombocytopenia is a decreased platelet count generally

defined as less than 150,000/ $\mu$ L. In newborns, the lower limit of normal for a platelet count may be closer to 100,000/ $\mu$ L and prematurity may lead to an even lower platelet count related linearly to gestational age. Weidmeier *et al* found the lower limit of platelet counts (5<sup>th</sup> percentile) in neonates  $\leq$ 32 weeks gestation to be 104,200/ $\mu$ L and those late-preterm to term to be 123,100/ $\mu$ L. Platelet counts greater than 50,000/ $\mu$ L tend to be asymptomatic unless there is a significant trauma or platelet dysfunction.

### Diagnostic approach

Once thrombocytopenia has been documented, the age of the patient becomes very important. Newborns with thrombocytopenia have an entirely different differential diagnosis than older children. It is then important to establish if the patient is healthy or ill appearing because the differential diagnosis of an ill child/infant differs from that of a healthy appearing child/infant.

The laboratory evaluation should begin with a CBC, reticulocyte count and evaluation of a peripheral blood smear. In an ill infant or child, a coagulation screen including an APTT, PT and TT is indicated as well.

### Thrombocytopenia in the newborn

#### Ill newborn

The differential varies some depending age at the onset of thrombocytopenia. *Early onset thrombocytopenia* (< 72 hours postnatally) is commonly due to a congenital infection, viral or bacterial infection, or perinatal asphyxia. Birth asphyxia has been strongly linked to subsequent development of thrombocytopenia. *Late onset thrombocytopenia* (>72 hours postnatally) is often due to sepsis, necrotizing enterocolitis (NEC) or a metabolic disorder in ill appearing newborns with sepsis being the most common. Murray *et al* found that in 75% of cases, the platelet count fell from normal to <50,000/ $\mu$ L within 48 hours.

Pancytopenia in an ill newborn may be due to an infectious process but

a bone marrow infiltrative process should be considered, particularly with the presence of hepatomegaly, splenomegaly or both. Congenital leukemia, neuroblastoma, or a hemophagocytic disorder may present with pancytopenia in the newborn.

### Healthy appearing newborn

The most important diagnosis to be excluded in the healthy newborn with thrombocytopenia is immune mediated thrombocytopenia, particularly alloimmune thrombocytopenia. This remains an important diagnosis to make because of its association with intracranial hemorrhage and its implications for the mother's future pregnancies. Any newborn with platelet counts <30,000/ $\mu$ L should have a head sonogram to rule out intracranial hemorrhage. Thrombocytopenia associated with anemia and jaundice suggests the presence of hemolytic disease of the newborn while symptomatic polycythemia can also be associated with thrombocytopenia. Thrombosis, DIC, genetic disorders and drug-induced thrombocytopenia complete the major diagnostic entities to be explored.

Most secondary thrombocytopenia is short-lived once the underlying cause is treated or resolved. Persistent thrombocytopenia should alert the physician to explore metabolic disorders or congenital thrombocytopenia. A thorough physical examination may disclose hemangiomas, heptosplenomegaly, dysmorphic feature or a mass that may direct your differential diagnosis to specific disorders like Kasabach-Merritt syndrome, congenital leukemia, thrombocytopenia-absent-radii (TAR) syndrome, amegakaryocytic thrombocytopenia (AMT), or renal vein thrombosis.

### Maternal history

In the evaluation of newborn thrombocytopenia, a thorough maternal history, peripartum history and complete physical examination are essential to achieve a proper diagnosis. Assessing for the presence of a gestational infec-

tion, maternal history of immune thrombocytopenia, autoimmune disorder or family history of hereditary thrombocytopenia is important in the evaluation of an infant with thrombocytopenia. The presence of placental abnormalities or peripartum asphyxia will also aid in explain the thrombocytopenia.

#### **Thrombocytopenia in children**

Like in the neonate, infection must be considered first and foremost in the ill appearing child. The addition of anemia, leukopenia, or neutropenia suggests the presence of an infiltrative process in the bone marrow or possible marrow failure such as acute leukemia, myelodysplastic syndrome or aplastic anemia.

The vast majority of healthy appearing children with symptomatic (bruising and petechiae) or asymptomatic isolated thrombocytopenia have immune mediated thrombocytopenia (ITP). ITP presents in children with an average of around 6 years, effects males and females equally and often follows a viral infection. While ITP can explain many cases of childhood thrombocytopenia, it is important to consider a comprehensive differential diagnosis. Evans syndrome needs to be considered when anemia is present in addition to thrombocytopenia. Platelet function disorders like Bernard-Soulier Syndrome and type IIB von Willebrand disease must be considered when bleeding is disproportionate to the degree of thrombocytopenia, i.e. bleeding and bruising with platelet count of 50,000-100,000/ $\mu$ L. The presence of dysmorphic features should alert the clinician to the possibility of an inherited marrow failure disorder like Fanconi anemia, TAR or AMT.

#### **Therapy**

When severe, symptomatic thrombocytopenia is present, therapy must be given. If platelet counts <30,000/ $\mu$ L in the newborn and

<10,000/ $\mu$ L in a child is accompanied by bleeding symptoms, a platelet transfusion must be considered. However, the therapy will depend on the cause of the thrombocytopenia.

In general, secondary thrombocytopenia treated with apheresis obtained platelets dosed at 10-15mL/kg of body weight sufficiently corrects the thrombocytopenia. If coagulopathy is present, replacement therapy with plasma products may also be needed. These measures help prevent serious complications while the underlying cause is being treated.

Neonatal alloimmune thrombocytopenia, if it is severe, needs to be treated with antigen specific platelet transfusions. While these are often not available, random platelets can also be used with success. Additionally, immune modulation with steroids and/or intravenous gamma globulin (IVIG) may be added when antigen specific platelets are not available.

The therapy for immune thrombocytopenia in the newborn is similar to that for autoimmune thrombocytopenia.

The therapy for ITP is controversial and there are multiple conflicting series of guidelines for the therapy of ITP. Therefore, in the absence of solid evidence, I can provide you with my approach to the treatment of ITP. The first parameter to consider is the severity of the symptoms. The international community has attempted to quantify symptoms by defining two types of hemorrhage, wet and dry purpura. Wet purpura represents significant hemorrhage while dry purpura does not. The first question to ask is, "Is the patient bleeding significantly with nose bleeds that cannot be stopped with pressure, hematuria, hematochezia or intracranial hemorrhage?" If yes to any of the above, therapy is indicated with IVIG with or without

added steroids depending on severity of bleeding. Platelet transfusions may provide short-term relief in subject with intracranial hemorrhage while IVIG and steroids tend to correct the thrombocytopenia.

Subjects without symptoms and platelet counts >30,000/ $\mu$ L do not need pharmacological therapy. I do not treat asymptomatic subjects regardless of platelet count, however, some colleagues will treat asymptomatic patients with platelet counts <10,000/ $\mu$ L or 20,000/ $\mu$ L.

At this point, there is no indication for the use of thrombopoietin-mimetic agents in childhood acute ITP however, they have been successful at treating chronic ITP.

#### **Summary**

Thrombocytopenia is a frequently encountered in children and newborns. A simple diagnostic approach based on history, physical examination, CBC and examination of the peripheral blood smear can guide the reveal the cause of thrombocytopenia. The therapy for secondary thrombocytopenia is a platelet transfusion to treat serious hemorrhage. The therapy for ITP is controversial but can be very effective and generally includes IVIG and/or steroids as front line agents. The use of thrombopoietin-mimetic agents in chronic ITP has had good results, but their role in treating other causes for childhood thrombocytopenia is still to be determined.

#### **BIBLIOGRAPHY**

1. Wiedmeier SE, Henry E, Sola-Visner MC, Christensen RD. Platelet reference ranges for neonates, defined using data from over 47,000 patients in a multihospital healthcare system. *J Perinatol* 2009;29:130-136.
2. Savoia A. Molecular basis of inherited thrombocytopenias. *Clin Genet* 2016; 89:154-62.
3. Segal JB, Powe NR. Prevalence of immune thrombocytopenia: analy-

- ses of administrative data. *J Thromb Haemost* 2006;4:2377-83.
4. Schultz CL, Mitra N, Schapira MM, Lambert MP. Influence of the American Society of Hematology guidelines on the management of newly diagnosed childhood immune thrombocytopenia. *JAMA Pediatr* 2014;168:e142214.
  5. Sparger K, Deschmann E, Sola-Visner M. Platelet transfusions in the neonatal intensive care unit. *Clin Perinatol* 2015;42:613-23.
  6. Carr R, Kelly AM, Williamson LM. Neonatal thrombocytopenia and platelet transfusion-a UK perspective. *Neonatology* 2015;107:1-7.
  7. Lieberman L, Bercovitz RS, Sholapur NS, Heddle NM, et al. Platelet transfusions for critically ill patients with thrombocytopenia. *Blood* 2014;123:1146-1151.
  8. Busse JB, Hsieh L, Buchanan GR, Stine K, et al. Long-term use of the thrombopoietin-mimetic romiplostim in children with severe chronic immune thrombocytopenia (ITP). *Pediatr Blood Cancer* 2014.

### Mieloma múltiple

Jorge Vela-Ojeda, Miriam A García-Ruiz Esparza

UMAE Especialidades, Centro Médico Nacional La Raza, IMSS

### Introducción

El mieloma múltiple (MM) es una gammopatía monoclonal maligna en la que se han observado grandes avances, no solamente en el tratamiento, sino también en el conocimiento de la biología de la enfermedad.

La célula maligna en interacción con el microambiente de la médula ósea, específicamente con osteoblastos y células mesenquimales, a través de moléculas de adhesión (VCAM, ICAM, y fibronectina por parte de las células mesenquimales y LFA-1, MUC-1 y VLA-4 por parte de las células de mieloma múltiple), inicia la secreción de citocinas, factores de crecimiento y quimiocinas por ambas células

(IGF-1, VEGF, FGF, IL-6, HGF, TGF- $\beta$ , CXCL12 por parte de las células mesenquimales, y TNF, TGF- $\beta$ , IL-6, CXCR4 y VEGF por las células de mieloma múltiple) dentro de un sistema de retroalimentación positiva que explica, en parte, la fisiopatología de esta enfermedad y que es responsable de la generación de multirresistencia a la quimioterapia. Esta secreción de citocinas y factores de crecimiento también induce a la activación de varias vías de señalización intracelular en las células del mieloma múltiple (RHO, AKT, PI3K, JAK-STAT, RAS) que, a su vez, explica la inhibición de apoptosis, proliferación y supervivencia de las células malignas y el aumento de la angiogénesis en el nicho hematopoyético.

En las células del mieloma múltiple, como en la mayor parte de los cánceres, existen alteraciones epigenéticas, principalmente hipermetilación del ADN, aumento de las desacetilasas de histonas (HDAC) y en años recientes se ha reportado la existencia de micro ARNs, lo que favorece la proliferación celular, la inhibición de los puntos de control (*checkpoints*) del ciclo celular y la inmortalidad celular.

Otra alteración importante que sufren los pacientes con mieloma múltiple es la inmunosupresión. Al diagnóstico los pacientes tienen, además de hipogammaglobulinemia y respuesta inmunitaria humoral alterada, cifras bajas de linfocitos CD4+, células dendríticas tipo 2 y células NK. Además de la disminución en la cifra de estas células, su función suele estar disminuida.

El mieloma múltiple se considera incurable hasta la fecha; sin embargo, en los últimos 15 años el arsenal terapéutico contra esta enfermedad ha aumentado considerablemente. Sin duda alguna, después del esquema clásico de melfalán y prednisona del decenio de 1960,

el trasplante autólogo de células hematopoyéticas fue el primer procedimiento que demostró aumento en la probabilidad de supervivencia de los pacientes.

La época moderna del tratamiento de esta enfermedad data de finales del decenio de 1990 con el resurgimiento de la talidomida, en 2003 con bortezomib y en 2006 con lenalidomida, que actualmente, junto con el trasplante, constituyen la piedra angular del tratamiento. Estos medicamentos, en combinación con fármacos antiguos como melfalán, dexametasona, ciclofosfamida y prednisona, en el peor de los casos, han duplicado la probabilidad de supervivencia de los pacientes, de manera que hoy día esta enfermedad puede considerarse de evolución crónica. En los últimos 13 años la Dirección de Alimentos y Fármacos de Estados Unidos (FDA) ha aprobado una gran cantidad de medicamentos contra esta enfermedad (Cuadro 1): en 2003 bortezomib endovenoso, en 2006 lenalidomida, en enero de 2012 bortezomib subcutáneo, en julio de 2012 carfilzomib y en febrero de 2013 pomalidomida.

Sin embargo, un hecho insólito en la Oncología, y sobre todo en la Hematología, ocurrió en 2015 con cuatro aprobaciones: el 23 de febrero la aprobación de panobinostat (Farydak), el primer inhibidor de HDACs, el 16 de noviembre la aprobación de daratumumab (Darzalex), el primer anticuerpo monoclonal dirigido contra CD38, el 20 de noviembre la aprobación de ixazomib (Ninlaro), el primer inhibidor del proteasoma oral, y el 30 de noviembre la aprobación de elotuzumab (Empliciti), otro anticuerpo monoclonal dirigido contra la proteína SLAMF7.

Por si fuera poco, el 21 de enero de 2016, la FDA aprobó la combinación de carfilzomib+dexametasona por haber demostrado superioridad

**Cuadro 1.** Aprobación de medicamentos contra mieloma múltiple por la FDA

Nombre genérico	Nombre comercial	Compañía farmacéutica	Fecha de aprobación
Bortezomib	Velcade	Millennium Pharma Janssen Cilag	13 de mayo de 2003
Lenalidomida	Revlimid	Celgene/Asofarma	29 de junio de 2006
Bortezomib subcutáneo	Velcade	Millennium Pharma Janssen Cilag	23 de enero de 2012
Carfilzomib	Kyprolis	Onyx Pharm	20 de julio de 2012
Pomalidomida	Pomalyst	Celgene	8 de febrero de 2013
Panobinostat	Farydak	Novartis	23 de febrero de 2015
Daratumumab	Darzalex	Janssen Cilag	16 de noviembre de 2015
Ixazomib	Ninlaro	Takeda	20 de noviembre de 2015
Elotuzumab	Empliciti	Bristol Myers-Squibb	30 de noviembre de 2015
Carfilzomib+Dex	Kyprolis	Onyx Pharm	21 de enero de 2016

contra el esquema bortezomib+ dexametasona (estudio ENDEAVOR).

Por lo anotado, es muy posible que estemos muy cerca de la época de la curación de esta devastadora enfermedad.

**REFERENCIAS**

1. Chesi M, Bergsagel PL. Molecular pathogenesis of multiple myeloma: basic and clinical updates. *Int J Hematol* 2013;97:313-323.
2. Bolli N, Avet-Loiseau H, Wedge DC, et al. Heterogeneity of genomic evolution and mutational profiles in multiple myeloma. *Nat Commun* 2014;5:2997.
3. Herndon TM, Deisseroth A, Kaminskas E, et al. US Food and Drug Administration approval: carfilzomib for the treatment of multiple myeloma. *Clin Cancer Res* 2013;19:4559-4563.
4. Dimopoulos MA, Leleu X, Palumbo A, et al. Expert panel consensus statement on the optimal use of pomalidomide in relapsed and refractory multiple myeloma. *Leukemia* 2014;28:1573-1585.
5. Ghobrial IM. Revisiting treatment paradigms in high-risk smoldering multiple myeloma: out with the old, in with the new? *Leuk Lymphoma* 2013;54:2328-2330.

6. Balasa B, Yun R, Belmar NA, et al. Elotuzumab enhances natural killer cell activation and myeloma cell killing through interleukin-2 and TNF-a pathways. *Cancer Immunol Immunother* 2015;64:61-73.
7. Laubach JP, Richardson PG. CD38-targeted immunochemotherapy in refractory multiple myeloma: a new horizon. *Clin Cancer Res* 2015;21:2660-2662.
8. Lokhorst HM, Plesner T, Laubach JP, et al. Targeting CD38 with daratumumab monotherapy in multiple myeloma. *N Engl J Med* 2015;373:1207-1219.
9. Nooka AK, Kastritis E, Dimopoulos MA, Lonial S. Treatment options for relapsed and refractory multiple myeloma. *Blood* 2015;125:3085-3099.

**Hematopoietic stem cell transplantation in multiple myeloma**

*David H Vesole*

Professor of Medicine Georgetown University. Director, Myeloma Program Medstar Georgetown University Hospital. Co-Chief, Myeloma Division. Director, Myeloma Research John Theurer Cancer Center

In the era of novel anti-myeloma agents autologous stem cell transplantation (ASCT) and subsequent effective salvage therapies at the

time of relapse; there has been significant improvement in the survival of patients with multiple myeloma (MM). For transplant eligible patients, the typical treatment sequence includes induction therapy combining a proteasome inhibitor with dexamethasone and either an immunomodulatory agent or alkylating agent (e.g. cyclophosphamide) for 3-4 cycles followed by ASCT. Thereafter, there are a number of options including: observation, a planned second ASCT, consolidation followed by maintenance or maintenance alone, or for select high-risk patients, allogeneic transplant. The incidence of complete remission, even to the extent of minimal residual disease, can be achieved in over 50% of the patients including high rates of minimal residual disease negativity. Despite this marked improvement in response with this approach, the vast majority of patients relapses and requires subsequent therapies. The available options include retreatment with the initial regimen, assuming efficacy and tolerability and, subsequently, the more recently approved drugs including carfilzomib, pomalidomide, panobinostat and, recently, monoclonal antibodies. In this article, questions are posed at different phases of treatment surrounding hematopoietic stem cell transplantation.

**Stem cell mobilization: growth factor versus growth factor plus chemotherapy?**

Myeloma patients, in general, are ‘good’ stem cell mobilizers. We have learned that hematopoietic growth factor alone may not be sufficient in patients with prolonged lenalidomide exposure. In these patients, either chemotherapy plus growth factor or G-CSF plus plerixafor is necessary to mobilize adequate stem cells. The question whether chemotherapy mobilization improves outcomes



*versus* growth factor alone has been evaluated in a retrospective analysis of 968 patients with MM from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research database who received an autologous transplant. There were no identifiable differences in neutrophil engraftment kinetics, PFS or OS between the two groups.

#### **Optimal timing of transplant**

*Should we treat to maximal response prior to transplant?*

Should we optimize pretransplant induction regimens to improve post-transplant remission duration and survival? A growing number of studies indicate that the depth of response pretransplant correlates with post-transplant progression-free survival (PFS) and, in some studies, overall survival (OS) <sup>2</sup> and <sup>3</sup>. With the advent of technologies allowing the assessment of progressively lower burdens of disease, these correlations between depth of response and PFS and OS have become more profound and with this the inclination to intensify therapy to lessen the extent of minimal residual disease (MRD) more compelling. However, we have never definitively answered the question if doing more to achieve a greater depth of response, at the expenses of increased toxicity, impairment of quality of life, and potential loss of future treatment options, ultimately translates into improved outcomes. Prior studies do not address whether induction algorithms should include multiple regimens to achieve a greater response depth. How many cycles of induction therapy should we administer? Should we treat to maximum response with 1 induction regimen? Or, should we treat with sequential induction regimens until we achieve a “good” response? The Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR) report a retrospective database analysis of pretransplant

depth of response and its impact on transplant outcomes. From the CIBMTR database, a group of 539 patients who had not achieved at least a partial response to first-line induction therapy, were divided into two subgroups. The question that was asked was whether additional chemotherapy to improve induction responses pretransplant improves outcomes post-transplant. Thus, 324 patients received additional pretransplant “salvage” therapy, and these patients were compared with 215 patients who went directly to transplant without further treatment. Bottom line, although 68% of the “salvage” cohort had improved response (only 8% complete response), these patients with deeper responses did not demonstrate improved PFS or OS in a multivariate analysis. The authors concluded that despite greater depth of response to “salvage” therapy pretransplant, patients did not have improved post-transplant outcomes.

#### *Early versus late transplant*

With the routine institution of induction regimens utilizing combinations of immunomodulator agents and proteasome inhibitors, impressive overall response rates and depth of responses have been demonstrated: it is anticipated that response rates exceed 90% and some studies report minimal residual disease negativity in over 80% of patients. Therefore, the question has arisen whether patients should continue with the standard treatment approach of induction followed by high dose therapy (with or without consolidation/maintenance) or whether transplant can be deferred until first relapse. To address this question, an international French/US study (IFMDFCI 2009) compared early and late autologous transplant (ASCT) in younger (<65 years) patients was conducted. The randomized trial compared conventional treatment (8 cycles

of lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone [RVD]; and high-dose cyclophosphamide/G-CSF stem cell mobilization; ASCT at relapse) to a regimen consisting of RVD plus ASCT followed by RVD consolidation. In both arms, patients received lenalidomide maintenance for 12 months. The results of the first 700 patients enrolled in France was presented at the 2015 ASH meeting in December (Attal et al, Blood 2015;126: abstract 391). At a mean follow-up of 39 months, PFS was superior in the ASCT arm (9 months), with a stratified p value for log-rank test < 0.0002; HR= 1.5, 95% CI= 1.2-1.9. The 3-year post-randomization PFS rates were 61% and 48% in the transplant and non-transplant arms, respectively. The benefit of ASCT applied regardless of patient age, gender, immunoglobulin isotype, ISS stage, cytogenetics, and whether there was a complete response or not after 3 cycles of RVD. The investigators concluded “these results demonstrate that ASCT should remain a standard of care for young patients with de novo myeloma, and suggest that RVD plus ASCT could be a future reference strategy in this setting.”

#### **Consolidation therapy: What is the benefit?**

Another area of clinical pursuit is the importance and impact of consolidation prior to maintenance therapy. There are trials reporting the use of bortezomib, bortezomib/thalidomide/dexamethasone vs thalidomide/dexamethasone, lenalidomide and lenalidomide/bortezomib/dexamethasone (Roussel et al). Virtually all of these trials show improvement in the depth of response, but the ultimate improvement in PFS and OS has yet to be determined. Further difficulties in evaluating the impact of consolidation are that the majority of trials continue maintenance therapy

after a finite number of cycles of consolidation. Many of the current transplant trials, such as the BMT CTN (Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network) 0702 and the IFM/DFCI (Intergroupe Franco-phonie du Myélome/Dana-Farber Cancer Institute) are incorporating consolidation strategies, usually PI/IMiD/corticosteroid for 2 to 4 cycles followed by lenalidomide maintenance therapy. There are no on-going trials directly comparing consolidation *versus* no consolidation.

#### Maintenance therapy

Maintenance therapy in multiple myeloma has been under investigation for decades. Before the introduction of novel therapies (proteasome inhibitors [PIs] and immunomodulatory drugs [IMiDs]), maintenance therapy using corticosteroids, interferon, or chemotherapy was deemed too toxic, ineffective, or minimally effective.

#### Thalidomide

Patients treated with thalidomide, the first of the 3 available IMiDs, have improved progression-free survival in most trials and overall survival in some trials. The agent is poorly tolerated, however, leading to high discontinuation rates.

#### Lenalidomide

In the posttransplant setting, it is clear from 3 randomized trials that lenalidomide maintenance provides a 14- to 26-month improvement in PFS compared with observation. However, only the CALGB (Cancer and Leukemia Group B) 100104 trial, in a retrospective subgroup analysis, demonstrated an improvement in OS.

A meta-analysis of 4 randomized lenalidomide maintenance trials confirmed the improvement in PFS but only a trend in OS. It should be noted that in most of these trials, lenalidomide was not readily available as salvage therapy (crossover), thus obfuscating the OS endpoint –

which is similar to findings reported with thalidomide. This improvement in PFS comes with absolute or potential disadvantages: 1) at least a 2- to 3-fold increase in the risk of second primary malignancies; 2) an approximate 15% discontinuation rate due to toxicities (particularly myelosuppression); 3) the generation of lenalidomide-resistant clones by low-dose, subtherapeutic lenalidomide administration, negating the potential future use of lenalidomide for antimyeloma therapy; 4) the cost to society (for example, the cost of lenalidomide maintenance therapy is approximately \$100,000/year).

#### Proteasome inhibitors

There is much less data available incorporating proteasome inhibitors as maintenance therapy. In the transplant setting, the HOVON/GMMG group conducted a randomized trial that found that bortezomib-based induction followed by transplant with bortezomib maintenance provided a superior PFS and OS *vs* nonbortezomib induction followed by transplant with thalidomide maintenance. The Spanish Myeloma Group completed a 3-arm posttransplant maintenance trial in standard-risk patients that compared interferon *vs* thalidomide *vs* thalidomide/bortezomib. This trial demonstrated an improvement in PFS but not OS in the thalidomide/bortezomib cohort. More recently, a direct comparison of bortezomib *versus* observation was reported. Bortezomib was administered as bortezomib 1.6 mg/m<sup>2</sup> days 1, 8, 15 and 22 on a 35-day cycle x 4 cycles *versus* observation post transplant was performed by Straka et al (ASCO 2015). They found a 6-month improvement in PFS but no improvement in OS with a 51-month follow up. Since bortezomib requires subcutaneous administration, there is considerable interest in the recently approved

oral proteasome inhibitor, ixazomib. We are awaiting the results of a completed Phase 3 trial of post transplant ixazomib *versus* observation.

A completely unanswered question is the duration of any maintenance therapy. In the CALGB study, maintenance was continued until disease progression or intolerance. In the IFM study, the lenalidomide maintenance was ultimately limited to one year as there were indications in this study (not seen in the CALGB study) that the risk of second primary malignancies was greater in patients with lenalidomide exposure beyond 1 year. Similarly, in the on-going BMT CTN 0702 study, the lenalidomide is continued until progression. In contrast, the IFM/DFCI has two maintenance schedules: the IFM will discontinue after 1 year and the DFCI will continue indefinitely. Finally, the concept of combination PIs plus IMiDs and the utilization of monoclonal antibodies in the post transplant maintenance is being actively investigated.

#### Salvage transplants: Are they effective?

A number of single institution trials have reported progression-free survival across a wide range from 6 to 24+ months following salvage transplant. The CIBMTR retrospective analysis demonstrated an 11 month median PFS. There is only a single prospective trial reported by Cook et al (Lancet Oncol 2014;15:874-885) from the MRC in the United Kingdom. They compared salvage high dose melphalan to 12 weekly doses of cyclophosphamide (400 mg/m<sup>2</sup>). One hundred seventy four patients with sufficient stem cells were randomized: with a median follow up of 31 months the PFS was 19 months *versus* 11 months in favor of the salvage transplant group. Of note, there was no difference in overall survival between the groups at the time of the analysis.

Recently, a number of representative bodies from the American Society of Blood and Marrow Transplantation, European Society of Blood and Marrow Transplantation, Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network, and International Myeloma Working Group published a consensus statement on salvage transplants as follows:

1. In transplantation-eligible patients relapsing after primary therapy that did NOT include an autologous HCT, high-dose therapy with HCT as part of salvage therapy should be considered standard.
2. High-dose therapy and autologous HCT should be considered appropriate therapy for any patients relapsing after primary therapy that includes an autologous HCT with initial remission duration of more than 18 months.
3. High-dose therapy and autologous HCT can be used as a bridging strategy to allogeneic HCT.
4. The role of postsalvage HCT maintenance needs to be explored in the context of well-designed prospective trials that should include new agents, such as monoclonal antibodies, immune-modulating agents, and oral proteasome inhibitors.

*Allogeneic transplant: Who, when and how?*

Allogeneic transplant offers the advantage of myeloma-free stem cell support and the benefit of alloreactive T cells inducing a graft-versus-myeloma effect. It has been well documented that allogeneic transplant produces high CR rates and provides superior anti-relapse potential compared with ASCT. With conventional myeloablative allografts, the transplant related mortality (TRM) was prohibitively excessive. With current reduced intensity preparative regimens, the TRM is in the 10-15% range. Interestingly, two large prospective

studies randomized Phase 3 trials have been conducted with opposite results. The BMT CTN (Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network) 0102 multicenter trial in the United States and the European Blood and Marrow Transplant Registry both compared tandem ASCT with tandem ASCT-allo-SCT approach based on matched sibling donor availability (Krishnan et al; Garton et al). The conditioning regimen for each ASCT was melphalan 200 mg/m<sup>2</sup>; the conditioning for the allotransplant was 200 cGy of TBI (US trial) or TBI plus fludarabine (EBMT trial). In the US trial, the two arms were similar for the primary end point of 3-year PFS (46% vs 43%,  $p=0.67$ ) and OS (80% vs 77%,  $p=0.19$ ) in tandem ASCT vs ASCT/allo-SCT, respectively. In contrast, the European trial, with a median follow-up of 8 years, the PFS and OS for the tandem ASCT-allo-SCT was superior to the tandem ASCT group; PFS was 22% vs 12% ( $p=0.027$ ), and the OS was 49% vs 36% ( $p=0.030$ ), respectively, favoring tandem ASCT-allo-SCT. The TRM was 11% and 12% for the US and European trials, respectively. One of the major criticisms of both of these trials was the lack of use of “novel” therapies for induction and the absence of anti-myeloma therapy for the allogeneic transplant. Some experts have suggested the ‘death’ of allogeneic transplant in MM. However, MM is still incurable with novel induction followed by ASCT. The current focus in allogeneic transplant is to target high risk patients who have projected overall survival of less than 3-4 years (e.g. 17p deletions, t(14;16)). The future: What is the role of immune manipulation?

Two recent studies of chimeric antigen receptor (CAR) T cell technologies have reported promising data: Garfall et al (N Engl J Med 2016;374:194) reported a heavily

treated patient with refractory multiple myeloma who received an infusion of CTL019 cells, a cellular therapy consisting of autologous T cells transduced with an anti-CD19 chimeric antigen receptor, after myeloablative chemotherapy (melphalan, 140 mg per square meter of body-surface area) and autologous stem-cell transplantation. The patient achieved a complete response with a follow up of over 12 months. Syed et al (Blood 2015;126:abstracts) reported a phase 1 study of CAR T cells directed against B cell maturation antigen (BCMA). Escalating doses of CAR-BCMA T cells were administered following immunosuppressive chemotherapy (cyclophosphamide/fludarabine). Two patients at the highest dose achieved complete remissions post infusion. Another avenue of future investigation are the checkpoint inhibitors. Recent phase 1 data at the American Society of Hematology (Badros et al; San Miguel et al, Blood 2015;126:abstracts 506; 505) demonstrated anti-myeloma activity of pembrolizumab in combination with lenalidomide or pomalidomide. There are on-going clinical trials of checkpoint inhibitors post transplantation. Finally, there is a high level of interest in monoclonal antibody treatment (elotuzumab/daratumumab) post transplant either as single agents or in combination with lenalidomide.

## BIBLIOGRAPHY

1. Giralt S, Garderet L, Durie B, et al. American Society of Blood and Marrow Transplantation, European Society of Blood and Marrow Transplantation, Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network, and International Myeloma Working Group Consensus Conference on Salvage Hematopoietic Cell Transplantation in Patients with Relapsed Multiple Myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015;21:2039-2051.

2. Shah N, Callander N, Ganguly S, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for multiple myeloma: Guidelines from the American Society for Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015;21:1155-1166.
3. Vij R, Kumar S, Zhang MJ, et al. Impact of pretransplant therapy and depth of disease response before autologous transplantation for multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015;21:335-341.
4. Krishnan A, Pasquini MC, Logan B, et al. Autologous haemopoietic stem-cell transplantation followed by allogeneic or autologous haemopoietic stem-cell transplantation in patients with multiple myeloma (BMT CTN 0102): a phase 3 biological assignment trial. *Lancet Oncol* 2011; 12: 1195-1203.
5. Gahrton G, Iacobelli S, Björkstrand B, et al. Autologous/reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation vs autologous transplantation in multiple myeloma: long-term results of the EBMT-NMAM2000 study. *Blood* 2013; 121: 5055-5063.
6. Michaelis LC, Saad A, Zhong X, et al. Salvage second hematopoietic cell transplantation in myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013;19:760-766.
7. Uy GL, Costa LJ, Hari PN, et al. Contribution of chemotherapy mobilization to disease control in multiple myeloma treated with autologous hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2015;50:1513-1518.
8. Kumar S, Giralt S, Stadtmauer EA, et al. Mobilization in myeloma revisited: IMWG consensus perspectives on stem cell collection following initial therapy with thalidomide, lenalidomide-, or bortezomib-containing regimens. *Blood* 2009;114:1729-1735.
9. Roussel M, Lauwers-Cances V, Robillard N, et al. Front-line transplantation program with lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone combination as induction and consolidation followed by lenalidomide maintenance in patients with multiple myeloma: a phase II study by the Intergroupe Francophone du Myélome. *J Clin Oncol* 2014;32:2712-2717.
10. Cook G, Williams C, Brown JM, et al. High-dose chemotherapy plus autologous stem-cell transplantation as consolidation therapy in patients with relapsed multiple myeloma after previous autologous stem-cell transplantation (NCRI myeloma X relapse [intensive trial]): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014;15:874-885.

**Inmunomodulación por transfusión**

*Héctor Rodríguez-Moyado*

Hematólogo certificado por el Consejo Mexicano de Hematología. Miembro titular de la Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología. Miembro honorario de la Asociación Mexicana de Medicina Transfusional

El término modulación se ha usado en música y en electricidad cuando se desea obtener un cambio de tonalidad musical o cuando se desea mejorar la trasmisión de las señales. Cuando se practica una transfusión alogénica, pueden producirse en el receptor efectos inmunológicos que se consideran inmunomodulación por transfusión. En 1973 Opelz y Terasaki reportaron mayor supervivencia del trasplante renal cuando los pacientes habían recibido previamente transfusiones, esto es, aparentemente se produjo tolerancia al trasplante renal. La inmunomodulación por transfusión tiene efectos benéficos o nocivos; los nocivos pueden ser muy graves, por ejemplo, se han descrito casos de enfermedad de injerto contra hospedero por transfusión en adultos y en recién nacidos, y el síndrome TRALI del inglés (*transfusion related acute lung injury*). La transfusión es realmente un trasplante alogénico en tanto en los concentrados de eritrocitos, como en el plasma, permanecen células mononucleares inmunológicas del donador. La condición clínica del paciente es un factor importante que influye en la inmunomodula-

ción por transfusión, por ejemplo, los casos con infección con autoinmunidad, grandes traumatizados, etc. Otras características en el mecanismo de producción son las del componente sanguíneo, como la dosis, el tiempo de almacenamiento y la histocompatibilidad entre el donador y el receptor. Los efectos de la inmunomodulación por transfusión dependen de estas variables.

Para identificar la afectación de la respuesta inmunitaria por la transfusión deben recordarse las diferentes etapas de la respuesta inmunitaria (Figura 1).

La célula dendrítica presenta los antígenos a las células T nativas, mediante este estímulo, la célula T (CD4) activada toma dos caminos, uno hacia la inmunidad celular identificada como célula T ayudadora de tipo I (*T helper*); la otra es la célula TH2 que lleva a la inmunidad humoral.

La trascendencia de esta activación explicada de manera esquemática radica en que permite plantear que la transfusión puede considerarse un trasplante alogénico. Un factor determinante en la inmunomodulación por transfusión es la compatibilidad absoluta posible entre donador y receptor, misma que es remota (Cuadro 1).

Como se ve en la Figura 1, cuando se activan las células T nativas Th1 y Th2, ocurre la producción de citocinas. En la sangre alogénica, a pesar de las medidas tomadas para separar los leucocitos, siempre permanecen particularmente las células mononucleares, que son representantes del sistema de antígenos HLA del donador, así como las citocinas que se han identificado como componentes solubles liberados en el plasma de la sangre almacenada.<sup>2</sup>

Cuando se aplica una transfusión de sangre total o de uno de sus componentes, todos contienen células inmunitarias y sustancias



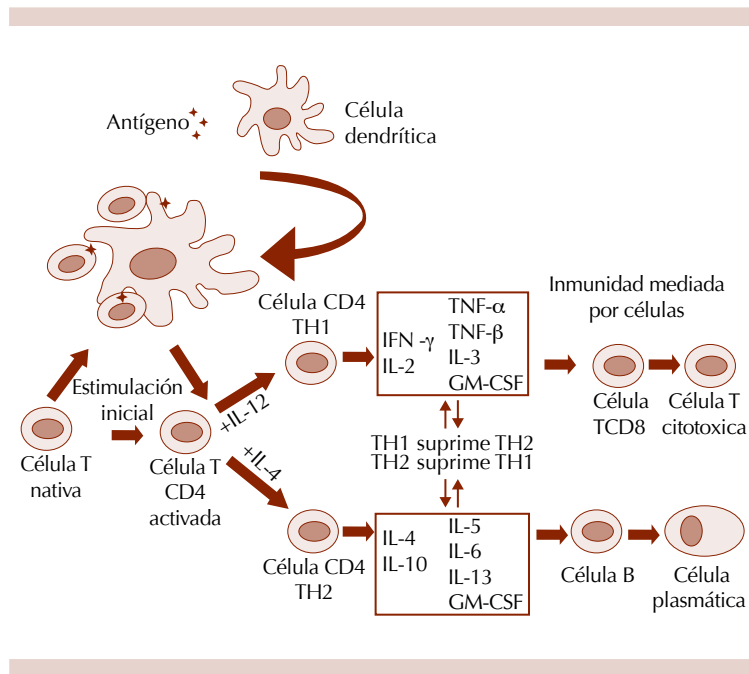


Figura 1. Esquema de la respuesta inmunitaria celular y humoral.

**Cuadro 1.** Posibilidad de semejanza genética entre individuos de diferente origen étnico limitada a 22 sistemas de características genéticas de grupos sanguíneos<sup>1</sup>

Grupo étnico	Posibilidad
De origen asiático	1 en 150,000
Mexicanos de origen indoamericano + caucasoide	1 en 300,000
Caucasoides	1 en 1,000,000

activadoras o inhibitoras de la respuesta inmunitaria.<sup>3</sup> Las células del donador, por definición, son genéticamente distintas a las del paciente receptor, por tanto, pueden dar lugar a efectos clínicos benéficos o nocivos de grado variable. Con base en estas breves consideraciones, podemos plantear un mecanismo de producción en el que intervienen las condiciones del donador inmunológicamente estable, esto es, en un estado

óptimo de salud. El paciente receptor puede estar en situación homeostática variable, esto es, inmunológicamente competente, con inmunodepresión adquirida o congénita o en circunstancias de inflamación desencadenadas por diferentes agentes etiológicos (hipersensibilidad).

En el Cuadro 2 se enlistan los efectos posibles de inmunomodulación relacionados con la transfusión.

Por último, la inmunotolerancia a un agente específico, en oposición a la supresión inmunitaria absoluta, es una meta de lo más deseable en la biología del trasplante. Una forma de acercarse a esta meta es el uso de células del donador que tienen actividad de células veto, ésta consiste en la propiedad de suprimir específicamente sólo las células T que están dirigidas a actuar contra los antígenos de células veto, que se han identificado experimentalmente como células citotóxicas.<sup>3</sup> Para evitar una enfermedad de injerto contra hospederio (EICH),

**Cuadro 2.** Inmunomodulación por posibles efectos de la transfusión

**Efectos benéficos**

- Mejor tolerancia al trasplante renal
- Alivio de síntomas de la enfermedad de Crohn y de la artritis reumatoide
- Remisión clínica transitoria en leucemia aguda

**Efectos nocivos**

- Mayor frecuencia de recaída en pacientes con cáncer de colon
- Mortalidad mayor en pacientes con cirugía de corazón
- Mayor mortalidad en pacientes hospitalizado en unidades de cuidados intensivos
- Infección posoperatoria frecuente en pacientes sometidos a cirugía de cadera

**Efectos nocivos tardíos**

- Aumento de frecuencia de linfoma no Hodgkin a largo plazo en pacientes con VIH

experimentalmente se han administrado dosis altas de células tronco-veto CD34<sup>+</sup> hematopoyéticas para favorecer el trasplante por encima de las barreras genéticas. En teoría, al combinar una megadosis de células tronco hematopoyéticas CD34<sup>+</sup> con células veto, puede facilitarse el implante del trasplante apoyados en quimioterapia no ablativa sin el riesgo de enfermedad de injerto contra hospederio.<sup>3</sup>

**REFERENCIAS**

1. Grunbaum BW, Crim M, Selvin S, Myhre BA, Pace N. Distribution of gene frequencies and discrimination probabilities for 22 human blood genetic systems in four racial groups, J Forensic Sci 1980;25:428-444.
2. Muylle L, Peterman ME. Effect of prestorage leucocyte removal on the cytokine levels in store platelet concentrates. Vox Sanguinis 1994;66:14-17.
3. Raddatz G, Deiwick A, Sato T, Schlitt HJ. Inhibition of cytotoxic

alloreactivity by human allogeneic mononuclear cells: Evidence for veto function of CD2<sup>+</sup> cells. *Immunology* 1998;94:101-108.

### Revisión sistemática de la enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión

Julio Edgar Selva-Pallares

Unidad de Hematología y Transfusión (UNHE-T) y Universidad Autónoma de Baja California, Zona Costa. Tijuana, Baja California, México

La enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión (EICH-At) es una complicación poco frecuente que ocurre después de una transfusión. Sus manifestaciones no son específicas, lo que retarda su diagnóstico.

A diferencia de la enfermedad injerto contra hospedero asociada con el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, la asociada con la transfusión afecta a la médula ósea del receptor de la transfusión.

La enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión fue descrita por primera vez en 1965 de una cohorte de niños inmunodeficientes<sup>1</sup> y en los decenios de 1970 y 1980 se definió como una enfermedad.<sup>2</sup> Posteriormente se reportaron casos en diferentes estados de inmunodeficiencia y recientemente se reconoció que puede afectar a receptores aparentemente inmunocompetentes.<sup>3-4</sup> Esto y los informes subsiguientes establecieron un segundo grupo de pacientes en riesgo de enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión: receptores de sangre que son heterocigotos para un haplotipo HLA para el que el donante es homocigoto.

La incidencia de enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión en los receptores inmunocompetentes no se conoce porque el diagnóstico puede pasar

inadvertido o puede confundirse con otras condiciones, como la variabilidad genética de una población y la incidencia de matrimonios consanguíneos. Se estima que la frecuencia con la que se transfunde la sangre de un individuo homocigoto para un haplotipo HLA en un receptor heterocigoto para ese haplotipo es aproximadamente de 1 en 500 a 1 en 7,174 en Estados Unidos.

### Fisiopatología de la enfermedad injerto contra hospedero<sup>5</sup>

Debido a que la enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión es causada por el injerto de linfocitos T viables, su factor de riesgo principal es la incapacidad de rechazar los linfocitos T del donante. El mayor conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión proviene de la relacionada con el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas porque el mecanismo es el mismo. En 1966, Billingham<sup>6</sup> postuló que existen tres requisitos para la aparición de enfermedad injerto contra hospedero: el injerto debe contener células inmunológicamente competentes (células T), debe haber diferencias antigénicas entre el donante y el receptor y el receptor debe ser incapaz de montar una respuesta inmunológica eficaz para erradicar las células trasplantadas inmunológicamente competentes. En la mayor parte de los casos, el sistema inmunitario destinatario es capaz de eliminar las células T transferidas. Sin embargo, cuando está inmunosuprimido, el receptor puede padecerla y en individuos inmunocompetentes es un evento muy poco frecuente.

En el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, la presentación del antígeno del huésped a las células del donador a menudo se da en el contexto de: a) daño e inflamación de los tejidos del huésped; b) una combinación

de factores que incluyen la enfermedad subyacente, infección y el régimen de acondicionamiento, que frecuentemente incluye dosis altas de quimioterapia y radioterapia. Las células del donador se trasplantan en un ambiente de antígenos extraños, citocinas activadas, aumento de la expresión de moléculas de adhesión y moléculas de reconocimiento de la superficie celular. Las células del donante que participan en el proceso inmunológico incluyen células T, células asesinas naturales (NK) y monocitos.

Para la aparición de la enfermedad injerto contra hospedero se consideran tres fases consecutivas:

- 1) la presentación de proteína del huésped a las células T del donador por las células presentadoras de antígenos (CPA);
- 2) la activación, proliferación y migración de las células T del donante, y
- 3) daño tisular del huésped.

Las células presentadoras de antígenos son necesarias y suficientes para estimular a las células T del donador a proliferar en respuesta a los antígenos del hospedero. Los receptores de las células T reconocen fragmentos de proteínas conocidas como un "antígeno menor" de histocompatibilidad, unidos a moléculas de complejo de histocompatibilidad mayor clase I y II sobre la superficie de las células presentadoras de antígenos.

Las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) de clase I (HLA-A, -B, -C) estimulan las células T CD8<sup>+</sup>, mientras que las de clase II del MHC (HLA-DR, -DP, -DQ) presentan a las células T CD4<sup>+</sup>.

La adicional existencia de "señales de peligro", como los lipopolisacáridos (LPS) o citocinas inflamatorias ayudan a las células presentadoras de antígenos a activar a las células T y la existencia o ausencia de estas

señales pueden hacer la diferencia entre una respuesta inmunitaria y la tolerancia.

Las células T activadas pueden tener fenotipos proinflamatorios (Th1) o antiinflamatorios (Th2). Las células Th1 secretan interleucinas (IL) -2, interferón (IFN- $\gamma$ ) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), mientras que las células Th2 secretan IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13.

Las células Th1 son importantes en la patogénesis de la enfermedad injerto contra hospedero aguda, y al reducir estas células se reducirá también la enfermedad injerto contra hospedero aguda. En la práctica la disminución de la IL-2 por las células T del donador es una de las principales estrategias de su profilaxis.

En contraste, la citocina Th2 IL-10 tiene un papel clave en la supresión de la respuesta inmunitaria y puede tener un papel importante en la regulación de la gravedad de la enfermedad injerto contra hospedero aguda.

Las células T reguladoras también influyen en la aparición de la enfermedad injerto contra hospedero. Las células T reguladoras que se identifican por la expresión de Foxp3, normalmente constituyen 5% de la población de células T CD4<sup>+</sup>. Estas células secretan IL-10 y factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ ), que inhiben la respuesta inmunitaria. También inhiben a las células presentadoras de antígeno por una vía dependiente del contacto. La migración de las células T de los tejidos linfoides a los órganos blanco es controlada por quimiocinas. En la enfermedad injerto contra hospedero experimental, las quimiocinas proinflamatorias, como la proteína inflamatoria de macrófagos-1 alfa (MIP-1 $\alpha$ ), CCL2-5, CXCL2, CXCL9-11, CCL27 se expresan mayormente. Las quimiocinas pueden tener acciones específicas de órganos, por ejemplo, las células

CXCR3 + que provocan enfermedad injerto contra hospedero aguda en el hígado y el intestino.

Los datos experimentales y clínicos indican que la lesión del órganos blanco resulta de los mediadores inflamatorios solubles y la citólisis mediada por células. El principal mecanismo efector por el que los linfocitos T y células NK lisan a las células blanco son los Fas/Fas ligandos (FasL) y las vías perforina/granzima. El Fas es una molécula de señalización del receptor de apoptosis en la superficie de un número de células diferentes. Cuando FasL se une a Fas, se forma un complejo de señalización inductor de la muerte, lo que resulta en la posterior activación de las caspasas. Las células T y NK almacenan perforina con granzima en gránulos citotóxicos. La perforina se inserta en la membrana de la célula blanco, formando poros que permiten a las granzimas entrar en las células e inducir la apoptosis a través de diversas vías efectoras. Las citocinas inflamatorias se sinergizan con los linfocitos T, lo que resulta en la amplificación del daño tisular local y en disfunción orgánica.

Una citocina inflamatoria clave, especialmente para la aparición de enfermedad injerto contra hospedero intestinal, es el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), que desempeña un papel importante en la amplificación y propagación de la "tormenta de citocinas", característica de la enfermedad injerto contra hospedero aguda, que sobreviene de manera temprana después del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. El TNF- $\alpha$ , producido por las células del donante y del huésped, promueve la enfermedad injerto contra hospedero y el daño del órgano blanco por tres vías diferentes: 1) activa las células dendríticas y aumenta la presentación de aloan-

tígenos, 2) recluta células efectoras a los órganos blanco a través de la inducción de quimiocinas inflamatorias, y 3) causa directamente la necrosis tisular.

#### **Factores de riesgo de enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión<sup>7</sup>**

La transfusión de células T viables son necesarias para padecer la enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión. Ésta puede aparecer después de un trasplante de tan pocas como 410<sup>3</sup> células T/kg de peso del receptor, aunque otros estudios indican que la enfermedad injerto contra hospedero aguda no se ve cuando se trasplantan menos de 1 a 5x10<sup>5</sup> células T/kg de peso destinatario. Una unidad de eritrocitos contiene, en promedio, aproximadamente 2x10<sup>9</sup> leucocitos, cada unidad derivada de plaquetas de sangre entera contiene aproximadamente 4x10<sup>7</sup> leucocitos y las plaquetas obtenidas por aféresis contienen aproximadamente 1x10<sup>8</sup> leucocitos.

La transfusión de componentes sanguíneos frescos se relaciona con enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión. La sangre fresca, presumiblemente, predispone a los pacientes a la enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión porque contiene mayor cantidad de linfocitos viables. La enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión no se ha reportado con la administración de productos de plasma libre de células, incluido el plasma fresco congelado, debido a que el proceso de congelación-descongelación destruye las células T. El plasma fresco no congelado ha causado enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión, pero rara vez se utiliza en la actualidad.

En pacientes con deficiencia de células T, que carecen de la capacidad de rechazar las células T del

donante, por lo general causada por síndromes de inmunodeficiencia congénita (síndrome de inmunodeficiencia combinada severa –SCID–, el síndrome de Wiskott-Aldrich, deficiencia de purina nucleósido fosforilasa y el síndrome de DiGeorge), en prematuros por inmadurez inmunológica y quienes reciben sangre de familiares o donantes haploidenticos u homocigotos. Tumores malignos como leucemias, linfomas y en quienes reciben tratamiento inmunosupresor contra tumores sólidos, especialmente con fludarabina y en trasplante de órganos causada por los linfocitos del donante transportados con el órgano del donante.

Además, cualquier paciente que recibe componentes de la sangre HLA compatibles o sangre de un pariente relacionado debe considerarse en riesgo, así como los pacientes sometidos a cirugía cardíaca a través de la inducción de inmunodeficiencia transitoria y la transfusión de sangre de menos de cuatro días de extraída.

#### **Manifestación clínica y diagnóstico de la enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión**

A diferencia de la enfermedad injerto contra hospedero asociada con el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas que puede tomar semanas o meses para manifestarse, la enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión se produce normalmente antes. En 245 pacientes, el primer síntoma de la enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión se observó en una mediana de 11 días a partir de la transfusión.<sup>8</sup> La fiebre (62.5%) es, a menudo, el primer síntoma, seguida por la participación de un órgano blanco como la piel (80%), el aparato gastrointestinal (43%) o el hígado (elevación de enzimas 66% y hepatomegalia en 13.5%), pancitopenia (65%),

aplasia de médula ósea (23%) o hipocelularidad (17%).

En la piel, la erupción maculopapular pruriginosa a menudo afecta las palmas y las plantas y se extiende por todo el cuerpo. En los casos graves puede producir ampollas y ulcerarse. La apoptosis en la base de papilas epidérmicas es un hallazgo patológico característico. Otros incluyen disqueratosis, exocitosis de linfocitos, linfocitos satélites adyacentes a los queratinocitos epidérmicos disqueratósicos e infiltración perivascular linfocítica en la dermis.

Cuando afecta el aparato gastrointestinal generalmente hay diarrea, en ocasiones secretora y voluminosa, y cuando es grave puede incluir vómitos, anorexia o dolor abdominal. El sangrado se produce como resultado de la ulceración de la mucosa y puede llevar a la muerte. El examen endoscópico con biopsia puede confirmar la afectación del aparato gastrointestinal. Las características histológicas incluyen la infiltración linfocítica, ulceraciones irregulares, apoptosis de las células epiteliales y abscesos de las criptas y la pérdida y aplanamiento de la superficie del epitelio. La afectación hepática en la enfermedad injerto contra hospedero se distingue por datos clínicos y de laboratorio de colestasis, con concentraciones elevadas de bilirrubinas e ictericia. Las características histológicas son daño del conducto biliar, el portal y la inflamación lobular, endotelialitis y colestasis canalicular. Sin embargo, rara vez se toma biopsia de hígado debido a que la trombocitopenia aumenta en gran medida los riesgos del procedimiento.

El diagnóstico de enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión se hace generalmente con base en los datos clínicos, pero la detección de los linfocitos del donante en la sangre circulante del receptor confirma el diagnóstico.

Las técnicas para establecer la existencia de linfocitos del donador se basan en diferencias genéticas entre el donador y el receptor e incluyen diferencias cromosómicas por técnicas de citogenética estándar, hibridación fluorescente *in situ* en la biopsia, detección de pequeñas diferencias genéticas en regiones altamente pleomórficas y diferencias en la tipificación de tejidos.

#### **Diagnóstico diferencial**

El diagnóstico diferencial de la enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión incluye enfermedades sistémicas graves:

*Infección:* VIH, hepatitis B y C, virus del dengue y leptospirosis.

*Reacción de fármacos:* los pacientes con enfermedades hematológicas que requieren transfusión a menudo también reciben una variedad de medicamentos que pueden causar reacciones sistémicas.

*Insuficiencia hepática:* por medicamentos, enfermedades autoinmunitarias y metabólicas.

*Enfermedad subyacente-tumor maligno:* la enfermedad conduce a la indicación de transfusión, puede incluir malignidad hematológica o el síndrome de inmunodeficiencia; algunos pacientes también pueden recibir quimioterapia citotóxica o trasplante de células progenitoras hematopoyéticas.

*Síndromes hemofagocíticos:* incluyen linfocitosis hemofagocítica y el síndrome de activación de los macrófagos que se distinguen por una profunda desregulación inmunitaria que conduce a la activación no controlada de los macrófagos.

#### **Tratamiento de la enfermedad injerto contra hospedero<sup>9</sup>**

Los principios del tratamiento de la enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión provienen principalmente de la bibliografía referente al trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. A pesar de un tratamiento



agresivo que ha incluido agentes como altas dosis de esteroides, azatioprina, metotrexato, ciclosporina, inmunoglobulina intravenosa y factores de crecimiento la enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión conlleva un pronóstico muy adverso, con tasas de mortalidad de más de 90%.

La globulina antitimocito se ha administrado junto con esteroides, pero no se prescribe de rutina porque no ha dado los mejores resultados y por el alto riesgo de infección y muerte. El tratamiento que puede ser menos inmunosupresor es la fotoféresis extracorpórea con psoralenos e irradiación ultravioleta de longitud de onda larga que inducen apoptosis celular, con efectos antiinflamatorios en diversos sistemas, que incluyen la prevención del rechazo de injertos de órganos sólidos.

Otra posible estrategia para el tratamiento es la inhibición del TNF- $\alpha$ . Un ensayo fase II de etanercept, un solubilizado dimérico del receptor del TNF- $\alpha$ , mostró eficacia significativa cuando se añade a esteroides sistémicos como tratamiento primario de la enfermedad injerto contra hospedero aguda. La administración de un anti-CD3, junto con ciclosporina, mostró eficacia en un caso y también se reportó un caso de remisión espontánea.

#### **Prevención de la enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión<sup>10</sup>**

Debido a la falta de un tratamiento eficaz y a una tasa de mortalidad muy elevada se ha dedicado considerable esfuerzo a su prevención. En la década de 1990, con el aumento de la irradiación y leucorreducción de productos sanguíneos, así como la disminución del uso de sangre fresca y donaciones dirigidas, la incidencia de la enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión se redujo considerablemente,

aunque en México no existen datos al respecto.

La leucorreducción disminuye el número de células T por 2 a 3 logs, pero no previene completamente la enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión. Una reducción de 2 log de leucocitos viables puede lograrse mediante el lavado de los glóbulos rojos y la reducción de 2 a 3 log se consigue mediante la congelación y deglicerolización.

La irradiación universal de todos los componentes celulares con 25 Gy inactiva a los linfocitos del donante a través de reticulación del ADN y elimina la enfermedad injerto contra hospedero asociada con la transfusión. La irradiación no daña las plaquetas o granulocitos y se puede realizar, de manera segura, en cualquier momento después de la colección con irradiadores comerciales que incorporan una a cuatro fuentes de rayos gamma, generalmente de cesio-137, pero también se pueden utilizar los aceleradores lineales y de cobalto-60.

La irradiación tiene un costo adicional y no está disponible en todos los hospitales, por lo que no se ha adoptado en todos los países. En Estados Unidos y en Europa no existe consenso para la irradiación de la sangre. Las indicaciones más frecuentes son: productos sanguíneos procedentes de parientes, transfusiones intrauterinas, transfusiones de granulocitos (excepto cuando se administra a pacientes con trastornos congénitos de los neutrófilos), pacientes con síndromes congénitos de inmunodeficiencia celular, enfermedad de Hodgkin y otras leucemias y linfomas, los pacientes que reciben fludarabina y pacientes sometidos a trasplante de células progenitoras hematopoyéticas.

El tratamiento fotoquímico con psoralenos e irradiación ultravioleta de

longitud de onda larga inactiva las células T y también puede inactivar patógenos transmitidos por la sangre, como el citomegalovirus.

## **REFERENCIAS**

1. Hathaway WE, Githers JH, et al. Aplastic anemia, histiocytosis and erythrodermia in immunologically deficient children. *NEJM* 1965;273:953-958.
2. Schroeder ML. Transfusion-associated graft-versus-host disease (TA-GVHD). *Br J Haematol* 2002;117:275-287.
3. Petz LD, Calhoun P, et al. Transfusion associated graft-versus-host disease in immunocompetent patients: report of fatal case associated with transfusion of blood from second degree relative, and a survey of predisposing factors. *Transfusion* 1993;33:742-750.
4. Agbaht K, Neriman Altintas D, Topeli A, Gokoz O, Ozcebe O. Transfusion-associated graft-versus-host disease in immunocompetent patients: case series and review of the literature. *Transfusion* 2007;47:1405-1411.
5. Levine JE, Ferrara JLM. In Rossi's Principles of transfusion medicine. Chapter 54: Transfusion-associated graft-vs-host disease. Simon TL, et al, editors. 4th ed. Blackwell Publishing, 2009;847-857.
6. Billingham RE. The biology of graft-versus host reactions. *Harvey Lec* 1966;62:21-78.
7. Juji T, et al. Transfusion-associated graft-versus-host disease: ISTB Science Series 2009;4:236-240.
8. Kopolovic, et al. A systematic review of transfusion-associated graft-versus-host disease. *Blood* 2015;126:406-414.
9. Williamson. Transfusion-associated graft-versus-host disease: new insights and a route towards therapy? *Transfusion Medicine*, 1998;8:169-172.
10. Fast LD. Developments in the prevention of transfusion-associated graft-versus-host disease. *Br J Haematol* 2012;158:563-568.

### Leucemia mieloblástica aguda en adolescentes: ¿una enfermedad diferente?

Oscar González-Llano

Hospital Universitario, UANL, Monterrey, Nuevo León

La palabra adolescencia procede del verbo latino *adolescere* que significa crecer o desarrollarse, a su vez, *adolescente* deriva del participio presente que es activo y, por tanto, es “el que está creciendo” y el término adulto deriva del participio pasado que corresponde a “el que ya ha crecido”. Según la Organización Mundial de la Salud, la adolescencia comprende el periodo entre 10 y 19 años; asimismo, con algunas variaciones los adultos jóvenes o el periodo de adultez temprana corresponde al comprendido entre 19 y 40 años de edad. Uno de los problemas de esta revisión estriba en los diferentes criterios seguidos por los distintos investigadores para definir las edades del grupo de adolescentes y adultos jóvenes.

El objetivo de esta revisión es valorar los datos con los que se dispone actualmente para determinar si los pacientes adolescentes y adultos jóvenes con leucemia mieloblástica aguda obtienen mayor beneficio al recibir protocolos de tratamiento pediátricos en lugar de los prescritos a la población adulta.

En la leucemia linfoblástica aguda se acepta que el pronóstico en los adolescentes y adultos jóvenes es menos favorable que el que se reporta en niños menores de diez años de edad, lo anterior puede explicarse por diferentes razones: una mayor proporción de casos de leucemia linfoblástica aguda de células T, mayor tasa de diagnósticos tardíos explicados porque estos pacientes generalmente tienen cifras más altas de hemoglobina y menos datos de síndrome infiltrativo, menor número de casos con

alteraciones genéticas favorables y también incremento en el número de pacientes con cromosoma Filadelfia positivo. Los protocolos de tratamiento contra la leucemia linfoblástica aguda que recibieron los adolescentes y adultos jóvenes durante mucho tiempo se basaron en protocolos de quimioterapia diseñados para pacientes adultos de mayor edad y así poder ser tolerados por este grupo de enfermos, es claro que eran tratamientos menos intensos que los que recibían los pacientes pediátricos. En los últimos años, y de acuerdo con múltiples publicaciones, la tendencia es que los adolescentes y adultos jóvenes reciban esquemas de tratamiento orientados a los que recibe la población pediátrica.<sup>1</sup>

La leucemia mieloblástica aguda representa entre 15 y 20% de las leucemias en niños, 33% de los casos en adolescentes y prácticamente la mitad de las leucemias del adulto.<sup>2</sup> Datos mexicanos aún un publicados de 1,018 pacientes mayores de 16 años de edad con leucemia aguda muestran 49% de casos de leucemia mieloblástica aguda y mediana de edad de 43 años. En los últimos 30 años se han podido obtener de manera gradual mejores porcentajes en la obtención de la remisión completa y en la supervivencia libre de eventos, que en la actualidad es de 65, 50 y 25% en niños, adolescentes y adultos, respectivamente; en México es muy probable que estos porcentajes sean menores.<sup>3</sup> Las posibles explicaciones para el mejor pronóstico obtenido actualmente son: la mejor definición del grupo de riesgo de recaída con la realización de un adecuado análisis citogenético, el establecimiento casi uniforme de la administración de dosis alta de citosina en el tratamiento postremisión y la mejora continua en las medidas de soporte con la administración de antibióticos, antimicóticos y el apo-

yo de la medicina de transfusión.

El pronóstico del grupo de adolescentes y adultos jóvenes es inferior al obtenido para los menores de 10 a 15 años de edad, los factores –algunos aún no demostrados– incluyen mayor número de casos con diagnósticos tardíos, mayor incidencia de citogenéticas desfavorables, disminución en la velocidad de depuración de los fármacos antineoplásicos que se traducirá en mayor exposición a los mismos con el consecuente aumento en la mortalidad relacionada con el tratamiento y mayor tendencia al abandono del mismo o al menos menor apego por las condiciones propias de los pacientes en este grupo de edad.

El tratamiento de la leucemia mieloblástica aguda en niños y adultos puede dividirse en dos fases, una de inducción a la remisión y una de intensificación o consolidación postremisión que incluye un número variable de ciclos de quimioterapia, incluida alguna modalidad de trasplante de células hematopoyéticas; por lo general no se recomienda ningún tratamiento de mantenimiento en ambas poblaciones. La mayor parte de las veces la inducción a la remisión en los pacientes adultos se basa en el esquema conocido como 3-7 (que incluye antracíclicos y citarabina) con variaciones en la dosis y en las diferentes opciones de medicamentos antracíclicos, por otro lado, en niños se prescriben regímenes que agregan a las diferentes variedades del esquema 3-7 otros fármacos, etopósido o tioguanina, por ejemplo. Al igual que en adultos se han intentado esquemas de inducción con dosis altas de citosina en lugar de la clásica de 100-200 mg/m<sup>2</sup>/día, con estos esquemas se reportan tasas de remisión completa de 65 a 70% en adultos y de 85 a 90% en niños.

Los esquemas de postremisión en niños y en adultos incluyen la

mayor parte de las veces la administración de tres a cinco ciclos de quimioterapia con dosis de citarabina de 1 a 3 g/m<sup>2</sup> por día durante tres a seis días y entre 3 y 12 aplicaciones, combinadas con fármacos que ya se habían administrado durante la inducción o con medicamentos no prescritos previamente.<sup>4,5</sup> Entre las opciones de tratamiento postremisión ambos grupos incluyen al trasplante de células hematopoyéticas, autólogo y alogénico, de acuerdo con la categoría de riesgo y con la disponibilidad de un donador HLA compatible.

Los datos publicados hasta ahora a este respecto provienen de otros países y, por tanto, aún no tenemos información en este sentido. Todas las publicaciones coinciden en hacer notar la importancia de diferentes aspectos, entre otros, el análisis citogenético al diagnóstico para la definición del riesgo de recaída y, por tanto, la decisión acerca del tratamiento a prescribir y, por otro lado, el manejo eficiente de las diferentes medidas de soporte, especialmente en lo concerniente a la administración profiláctica o terapéutica de antibióticos y al alto requerimiento transfusional para la atención de estos pacientes.

En la leucemia linfoblástica aguda los adolescentes y adultos jóvenes parecen beneficiarse al ser tratados con los protocolos pediátricos de quimioterapia; sin embargo, en las opciones terapéuticas contra la leucemia mieloblástica aguda en esta población en particular es más difícil definirlo con claridad porque además de que el número de investigaciones es escaso, los resultados han sido contradictorios. A continuación se muestran los datos más importantes de algunas de estas publicaciones: Creutzig y su grupo compararon los resultados de manera retrospectiva de pacientes con leucemia mieloblástica aguda, por un lado los menores de

18 años y por el otro aquéllos con edades entre 18 y 30 tratados con protocolos para niños y adultos, respectivamente y, no obstante que se referían como esquemas similares en intensidad, los niños recibían una dosis menor de antracíclicos; los resultados mostraron menor supervivencia global y libre de eventos en adultos jóvenes (de 21 a 30 años) y en los adolescentes sólo se observó una menor supervivencia libre de eventos sin diferencia respecto a la mortalidad relacionada con el tratamiento.<sup>6</sup>

Rubnitz y colaboradores, del Hospital Saint Jude, publicaron resultados diferentes en 2012; compararon los resultados de tres protocolos consecutivos contra leucemia mieloblástica aguda en menores de 21 años de edad y obtuvieron mejor supervivencia libre de eventos y global con el tratamiento más moderno, pero cuando compararon a los pacientes menores de 10 años con aquéllos entre 10 y 21 no obtuvieron resultados estadísticamente diferentes en la supervivencia libre de eventos ni global; sin embargo, sí observaron un aumento significativo en la mortalidad relacionada con el tratamiento en los pacientes de 10 a 21 años de edad.<sup>7</sup>

Canner y colaboradores reportaron hace poco más de dos años la experiencia con pacientes incluidos desde 1989 hasta 2006 en varios protocolos con los datos de los grupos norteamericanos COG y CCG para comparar los resultados entre los pacientes menores de 16 años (1,602) y los que tenían entre 16 y 20 (238) al momento del diagnóstico; no encontraron diferencias significativas en la supervivencia libre de eventos y global, pero, al igual que la experiencia del Hospital Saint Jude, también observaron mayor tasa de mortalidad relacionada con el tratamiento en el grupo de 16 a 20 años de edad.<sup>8</sup> El año pasado se publicó la experiencia japonesa en este campo y

en ella se compararon los resultados de tres protocolos consecutivos de los últimos 15 años aproximadamente, los pacientes se dividieron en cuatro grupos de acuerdo con la edad al diagnóstico, sólo 44 se incluyeron en el segmento de adolescentes y adultos jóvenes definidos como mayores de 15 años; los investigadores encontraron menor supervivencia libre de eventos y una mortalidad relacionada con el tratamiento significativamente más alta que en los menores de edad.<sup>9</sup>

Por último, este año los países nórdicos publicaron su experiencia con 116 niños entre 10 y 18 años de edad tratados con protocolos pediátricos y 253 pacientes de 15 a 30 años que recibieron tratamientos para adultos entre 1993 y 2009; los investigadores incluyeron también pacientes con leucemia promielocítica, sus resultados mostraron que la supervivencia libre de eventos y la global fueron iguales entre los dos grupos, incluyendo o no en el análisis a la leucemia promielocítica y ésta, además, tuvo las mismas tasas cuando se comparó con las otras variedades de leucemia mieloblástica aguda.<sup>10</sup>

En el análisis habrá que agregar también los problemas propios de nuestro país: diagnósticos tardíos, número reducido de adecuados análisis citogenéticos, falta de uniformidad en los protocolos de tratamiento que dificulta la adecuada toma de decisiones y carencia en muchos lugares de un manejo de soporte satisfactorio.

En resumen, podemos aceptar que el pronóstico de los pacientes adolescentes y adultos jóvenes con leucemia linfoblástica aguda es menos favorable que el de la población pediátrica y que también tienen mortalidad relacionada con el tratamiento; sin embargo, con los datos actuales resulta difícil definir claramente si el uso de pro-

toscolos pediátricos, generalmente más intensos que los prescritos para adultos podrían beneficiar al grupo de los adolescentes y adultos jóvenes, especialmente si se considera la elevada tasa de mortalidad relacionada con el tratamiento.

## REFERENCIAS

1. Pui CH, et al. Improved prognosis for older adolescents with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2011;29:386-91.
2. Hossain MJ, et al. Prognostic factors of childhood and adolescent acute myeloid leukemia (AML) survival: evidence from four decades of US population data. *Cancer Epidemiol* 2015;39:720-726.
3. Jaime-Pérez JC, et al. Characteristics and clinical evolution of patients with acute myeloblastic leukemia in northeast Mexico: an eight-year experience at a university hospital. *Acta Haematol* 2014;132:144-151.
4. Gibson BE, et al. Results of a randomized trial in children with acute myeloid leukaemia: medical research council AML12 trial. *Br J Haematol* 2011;155:366-376.
5. Estey EH. Acute myeloid leukemia: 2014 update on risk-stratification and management. *Am J Hematol* 2014;89:1063-1081.
6. Creutzig U, et al. Significance of age in acute myeloid leukemia patients younger than 30 years: a common analysis of the pediatric trials AML-BFM 93/98 and the adult trials AML-CG 92/99 and AMLSG HD93/98A. *Cancer* 2008;112:562-571.
7. Rubnitz JE, et al. Treatment outcome in older patients with childhood acute myeloid leukemia. *Cancer* 2012;118:6253-6259.
8. Canner J, et al. Differences in outcomes of newly diagnosed acute myeloid leukemia for adolescent/young adult and younger patients: a report from the Children's Oncology Group. *Cancer* 2013;119:4162-4169.

9. Tomizawa D, et al. Outcome of adolescent patients with acute myeloid leukemia treated with pediatric protocols. *Int J Hematol* 2015;102:318-326.
10. Wennström L, et al. Acute myeloid leukemia in adolescents and young adults treated in pediatric and adult departments in the Nordic countries. *Pediatr Blood Cancer* 2016;63:83-92.

## Leucemia aguda mieloblástica. Trasplante vs quimioterapia en un medio con recursos limitados

*David Gómez-Almaguer*  
Servicio de Hematología, Hospital Universitario Dr. José E González, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León

### Introducción

Las leucemias agudas constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades que se distingue por la infiltración de la médula ósea por células neoplásicas del sistema hematopoyético, denominados blastos, su causa aún se desconoce. Existen dos grandes grupos, la leucemia linfoblástica aguda y la leucemia mieloblástica aguda. Sólo nos referiremos a esta última.

La leucemia mieloblástica aguda es un grupo de leucemias que surgen de los precursores de las células mieloides, eritroides, megacariocíticas y monocíticas. Esta leucemia aguda es la más común en los adultos, principalmente en los mayores de 65 años en los países industrializados. La incidencia se incrementa con la edad, con media de 67 años, en Estados Unidos la incidencia anual es de 3.7/100,000 habitantes/año;<sup>1</sup> en México los datos de su incidencia y prevalencia son, en mi opinión, inexactos. Sin embargo, recientemente se reconoció que esta variante de leucemia en México es diferente porque la edad mediana de manifestación es de 40 a 45 años. En un estudio recientemente enviado a publi-

cación, que incluye alrededor de 500 pacientes originarios de varios puntos del país, la mediana de edad fue de 43 años, cifra muy similar a la informada en un estudio en el centro del país, que fue de 44 años,<sup>2</sup> mientras que en el norte de México fue de 32 años;<sup>3</sup> sin embargo, en este último estudio efectuado en Nuevo León se incluyeron también niños, lo que explica una mediana de edad menor.

De acuerdo con la Clasificación Francesa-Americana-Británica (FAB) hay ocho tipos de leucemia mieloblástica aguda, desde M0 hasta M7; sólo la M3 (promielocítica) tiene características clínicas, pronóstico y modalidad de tratamiento distintos, por ello esta variante no se incluye en este artículo.

### Tratamiento

#### Quimioterapia

El tratamiento habitual que ha permanecido sin gran cambio es el denominado 7+3, que incluye una antraciclina durante tres días y citarabina durante siete días. Es conveniente incluir consolidación que generalmente se basa en dos a tres ciclos de dosis altas de citarabina. Existen variaciones y ligeras modificaciones a este tratamiento sin lograr una aceptación general a estas adecuaciones. En lo personal prefiero la mitoxantrona en lugar de la idarubicina o daunorubicina. El tratamiento con quimioterapia es poco eficaz a mediano y largo plazo, en especial en situaciones de alto riesgo, mismas que se definen de acuerdo con la citogenética o genética de la leucemia; asimismo, el paciente con leucocitos mayores a 50,000 o edad mayor de 60-65 años suele tener escasa respuesta y tolerancia a la quimioterapia.<sup>4</sup> La supervivencia habitual es baja en nuestro país, por ejemplo, en la Universidad Autónoma de Nuevo León, de 132 pacientes estudiados, sólo 35% estaban vivos a los cinco



años<sup>3</sup> y en la Ciudad de México, en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, de 53 pacientes analizados, la supervivencia global fue de 23%.<sup>2</sup> La leucemia mieloblástica aguda es una enfermedad compleja y heterogénea, existe mayor conocimiento de las alteraciones moleculares genéticas que pueden ocurrir en casos especiales y que confieren un pronóstico particular, además de una oportunidad para un tratamiento con “blanco molecular”, medicamentos como el sorafenib o midostaurin son ejemplos de ello; sin embargo, esto no es válido todavía de manera rutinaria.

#### Trasplante

El trasplante de células hematopoyéticas de tipo alogénico es la modalidad terapéutica más eficaz para curar la leucemia aguda; sin embargo, existen dificultades diversas y obstáculos para su realización generalizada, a saber: 1) disponibilidad de células hematopoyéticas suficientes y adecuadas, 2) origen

o donador de estas células, 3) la elección del momento ideal para el trasplante, 4) régimen de acondicionamiento ideal, 5) personal y unidad especializados, 6) costo y toxicidad del procedimiento.

El trasplante autólogo no tiene la misma efectividad y los resultados son comparables a los de la quimioterapia intensiva. Su realización rutinaria es todavía cuestionada y debatible (Cuadros 1 y 2).

*Origen y disponibilidad de células hematopoyéticas.* En el trasplante de células hematopoyéticas alogénico habitual obtenemos una cantidad adecuada de células CD34 de un donador relacionado, habitualmente un hermano HLA idéntico en 10 antígenos (ABC, DR, DQ). La cifra ideal de células es igual o mayor a  $3 \times 10^6$  por kg; en nuestra experiencia infundir una cifra mayor de 5 millones por kg es aún mejor para minimizar riesgos, toxicidad y mejorar la supervivencia a largo plazo.<sup>6</sup> Elegir a un varón joven como donador puede ser im-

portante para aminorar el riesgo de enfermedad del injerto vs huésped. En casos de alto riesgo, como las leucemias en segunda remisión o resistentes, contar con células de un donante no relacionado, cordón umbilical o haploidénticas puede aumentar la posibilidad de obtener un efecto del injerto vs la leucemia, lo que incrementa la posibilidad de curación. En la actualidad, el uso de células de origen haploidéntico tiene un papel cada vez más relevante y particularmente útil en nuestro contexto, por su amplia disponibilidad de donadores. Esta alternativa de trasplante es cada vez menos peligrosa; se identifica con mayor precisión el proceso de rechazo al injerto y la aparición de enfermedad del injerto vs huésped. En el caso de esta última, las células T alorreactivas responsables de parte de su aparición se han propuesto como las portadoras de las cadenas  $\alpha\beta$  en el receptor de células T, y en contraparte, aquéllas con cadenas  $\gamma\delta$  como linfocitos con efecto injerto vs tumor. El grupo de la ciudad de Perugia, Italia, investiga clínicamente la utilidad de este descubrimiento depleando magnéticamente estas células antes de la infusión, con excelentes resultados preliminares.<sup>7</sup> Otro enfoque relevante a los trasplantes haploidénticos es el descubrimiento de la utilidad de la ciclofosfamida como un agente que limita la respuesta agresiva contra el hospedero, disminuyendo radicalmente células T alorreactivas *in vivo* cuando se administra en el tercer y cuarto días después de su infusión, a diferencia del otro grupo que utiliza depleción *ex vivo*, pero con resultados alentadores y de una manera mucho más económica.<sup>8</sup> Además, las células NK alorreactivas y la compatibilidad de su receptor KIR (*killer immunoglobulin-like receptor*, que reconoce alelos HLA clase

**Cuadro 1.** Relación de las aberraciones moleculares con el pronóstico y tratamiento

Aberración molecular	Efecto en el pronóstico	Posibles consideraciones terapéuticas
Mutaciones KIT en CBF LMA	Desfavorable	TCH alogénico o TKI
FLT3-ITD	Desfavorable	TCH alogénico o inhibidor de FLT3
MLL-PTD	Desfavorable	TCH alogénico o inhibidores de metiltransferasa de ADN o histona deacetilasa (además de quimioterapia)
Mutaciones de la alta expresión de EVI1	Desfavorable	TCH alogénico o inhibidores de metiltransferasa de ADN o histona deacetilasa (además de quimioterapia)

**Cuadro 2.** Citogenética y recomendaciones terapéuticas

Citogenética	Riesgo	Recomendación terapéutica
t(15;17) t(8;21) inv(16)/t(16;16)	Normal	Quimioterapia
Normal -Y	Intermedio	Trasplante de células hematopoyéticas
Otros	Alta	Trasplante de células hematopoyéticas

l) tienen un papel importante por su capacidad para reconocer y eliminar células neoplásicas en el receptor. Hace poco se descubrió un mayor efecto injerto vs tumor a mayor incompatibilidad en KIR y HLA clase I (o "ligando KIR") clínicamente.<sup>9</sup> Otro tipo de trasplante o terapia celular es el desarrollado por investigadores chinos, en el que se infunden células haploidénticas después de cada ciclo de consolidación con citarabina en dosis altas, a este tipo de trasplante se le conoce como microtrasplante y de manera preliminar parece ser prometedor y de bajo costo.<sup>10</sup>

Estos descubrimientos, además de reflejar lo poco que se sabe de estas complejas interacciones celulares, nos dan esperanza y campo de estudio. Lo más importante es que tienen el potencial de cambiar la panorámica en los trasplantes haploidénticos, aumentando su seguridad y efectividad y acercando esta poderosa arma terapéutica a más pacientes en un mejor momento.

*La elección del trasplante y el régimen de acondicionamiento.* El momento ideal para realizar el trasplante de células hematopoyéticas es cuando la enfermedad está en su mínima expresión, es decir, en remisión completa. Si bien el trasplante de células hematopoyéticas es la modalidad de tratamiento más eficaz contra la leucemia aguda, la toxicidad potencial y muerte relacionada con el procedimiento indican que se debe elegir cuidadosamente al paciente ideal. En el caso de la leucemia aguda mieloblástica el trasplante es ideal para los pacientes con riesgo intermedio y alto. Los pacientes con inversión del cromosoma 16, translocación 8:21 o variante M3 sólo se trasplantarían en caso de recaída. En casos de alto riesgo el trasplante debe considerarse al momento de obtener la remisión completa. No es necesario espe-

rar, ni administrar varios ciclos de consolidación, por lo general un ciclo de consolidación basta para ganar tiempo y proceder a la búsqueda del donador, aunque si se cuenta con el donador al momento de la remisión completa, se puede proceder al trasplante, porque administrar uno o más ciclos de consolidación pretrasplante no cambia el resultado final del mismo.<sup>11</sup>

En relación con el régimen de acondicionamiento, no existe diferencia importante entre el de intensidad reducida o el convencional mieloablativo. Por ello, es ideal en nuestro medio utilizar el de intensidad reducida por su menor toxicidad y menor costo, varios estudios que comparan esquemas de intensidad reducida vs esquemas convencionales o mieloablativos no han demostrado ventajas importantes cuando se administra la modalidad de mayor intensidad o mieloablativa.<sup>12</sup> Sin embargo, en casos de leucemia activa y resistente, que son los pacientes de mayor riesgo, pueden ser necesarias dosis más elevadas de quimioterapia.<sup>13</sup> Hace poco surgió la administración de quimioterapia combinada con radioterapia restringida a la médula ósea y el tejido linfoide, con ello evitamos daño a otros tejidos y aumentamos notablemente la posibilidad de curación. Esta modalidad la hemos utilizado con éxito en casos que anteriormente no se consideraban aptos para un trasplante.

*Otros factores.* Ciertamente existen otros factores que inciden en el resultado final para curar a un paciente con leucemia que es sometido a un trasplante. La experiencia del centro en cuestión es importante, a mayor número de pacientes trasplantados suele aumentar la eficacia. El trasplante ambulatorio tiene ventajas interesantes, porque al parecer se asocia

con mejor supervivencia y menos enfermedad injerto vs huésped. El costo es importante, especialmente en nuestro país, cualquier idea que disminuya costos sin afectar la calidad en los resultados debe ser bienvenida.

### **Conclusión**

El trasplante de células hematopoyéticas es la opción terapéutica más eficaz para obtener la curación en pacientes con leucemia aguda, especialmente en pacientes adultos. En niños con enfermedad residual positiva al término de la quimioterapia inicial, el trasplante de células hematopoyéticas también es la mejor opción. La referencia temprana de estos pacientes a un trasplante de células hematopoyéticas es muy importante, por no decir indispensable. A pesar de los avances en este campo, los resultados en pacientes más allá de una primera remisión completa son todavía desalentadores. El trasplante tiene un costo variable en México, que va de 150,000 a 300,000 pesos en la mayor parte de las instituciones mexicanas con atención pública.<sup>14</sup> No existe una comparación directa entre la quimioterapia y el trasplante postremisión; sin embargo, si consideramos la mayor mortalidad asociada con quimioterapia, es posible que por este solo factor el trasplante resulte el ganador en esta evaluación. En Estados Unidos e Inglaterra el costo de la inducción a la remisión y consolidación con quimioterapia se eleva enormemente, en Estados Unidos se calcula en 324,502 dólares y en Inglaterra en 59,426 dólares;<sup>15</sup> en México es necesario analizar prospectivamente estos costos para valorar, en combinación con los resultados terapéuticos, cuál opción, quimioterapia o trasplante, es la mejor elección para el paciente mexicano con leucemia mieloblástica aguda.

## REFERENCIAS

1. Dores GM, Devesa SS, Curtis RE, Linet MS, Morton LM. Acute leukemia incidence and patient survival among children and adults in the United States, 2001-2007. *Blood* 2011.
2. Huitrón-Santiago N, Arteaga-Ortiz L, Rosas-López A, et al. Experiencia del INCMNSZ en pacientes adultos con leucemia aguda. Cohorte 2003-2008. *Rev Invest Clin* 2010;62:100-108.
3. Jaime-Pérez JC, Brito-Ramírez AS, Pinzón-Uresti MA, et al. Characteristics and clinical evolution of patients with acute myeloblastic leukemia in north-east Mexico and eight year experience at a University Hospital. *Acta Haemtol* 2014;132:144-151.
4. Craig CM, Schiller GJ. Acute myeloid leukemia in the elderly: conventional and novel treatment approaches. *Blood Rev* 2008;22:221-234.
5. Deschler B, Lubbert M. Acute myeloid leukemia: epidemiology and etiology. *Cancer* 2006;107:2099-2107.
6. Gómez-Almaguer D, Gómez-Peña A, Jaime-Pérez JC, et al. Higher doses of CD34+ progenitors are associated with improved overall survival without increasing GVHD in reduced intensity conditioning allogeneic transplant recipients with clinically advanced disease. *J Clin Apher* 2013;28:349-355.
7. Norell H, Moretta A, Silva-Santos B, Moretta L. At the Bench: Preclinical rationale for exploiting NK cells and  $\gamma\delta$  T lymphocytes for the treatment of high-risk leukemia. *J Leukoc Biol* 2013;94:1123-1139.
8. Luznik L, O'Donnell PV, Fuchs EJ. Post-transplantation cyclophosphamide for tolerance induction in HLA-haploidentical bone marrow transplantation. *Semin Oncol* 2012;39:683-693.
9. Moretta A, Pende D, Locatelli F, Moretta L. Activating and inhibitory killer immunoglobulin-like receptors (KIR) in haploidentical haemopoietic stem cell transplantation to cure high-risk leukemias. *Clin Exp Immunol* 2009;157:325-331.
10. Guo M, Hu KX, Liu GX, et al. HLA-mismatched stem-cell microtransplantation as postremission therapy for acute myeloid leukemia: Long-term follow-up. *J Clin Oncol* 2012;30:4084-4090.
11. Forman SJ, Rowe JM. The myth of second remission of acute leukemia in the adult. *Blood* 2013;121:1077-1082.
12. Sensgsayadeth S, Savani BN, Blaise D, et al. Reduced intensity conditioning allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult acute myeloid leukemia in complete remission-a review from the acute leukemia working party of the EBMT. *Haematologica* 2015;100:859-869.
13. Gutiérrez-Aguirre CH, Cantú-Rodríguez OG, González-LLano O, et al. Non-myeloablative hematopoietic stem cell transplantation is of limited value in advanced or refractory acute myeloblastic leukemia. The Mexican experience. *Hematology* 2007;12:193-197.
14. Jaime-Pérez JC, Heredia-Salazar AC, Cantú-Rodríguez OG, et al. Cost structure and clinical outcome of a stem cell transplantation program in a developing country: the experience in northeast Mexico. *Oncologist* 2015;4:386-392.
15. Zeidan AM, Mahmoud D, Kucmin-Bemelmans IT, et al. Economic burden associated with acute myeloid leukemia treatment. *Expert Rev Hematol* 2016;9:79-89.

### La estandarización en el laboratorio de Hematología

Pedro A Zárate-Rodríguez

Hospital Central Sur de Alta Especialidad, PEMEX

### Justificación

Cuando tenemos la necesidad de introducir un método nuevo al laboratorio de Hematología, evaluamos muchos aspectos, entre ellos la factibilidad, la accesibilidad y los recursos disponibles. Se revisa la información disponible relacionada con el método que nos

interesa en los diferentes equipos que existen en el mercado; así, el profesional encargado de la toma de decisiones puede determinar si es factible implementarlo con los recursos humanos y materiales con que cuenta su laboratorio. Esto es solamente el principio; una vez que seleccionamos el método que teóricamente puede funcionar, éste tendrá que pasar por un proceso de validación-verificación, por el hecho de que las condiciones de cada laboratorio son diferentes, aunque sea el mismo equipo o instrumento. En los instrumentos de Hematología deben evaluarse, además del nivel de automatización que cubrirá aspectos relacionados con volúmenes de producción de resultados con rapidez y oportunidad, el desempeño de la metodología fundamental, la impedancia; la fotocolimetría para la medición de hemoglobina, así como el sistema óptico (rayo láser) para el diferencial de serie blanca y otras metodologías que ofrecen algunas marcas en particular, como radiofrecuencia para plaquetas o algunas citoquímicas, etc., para cubrir las necesidades diagnósticas que se tengan.

El objetivo de validar un método es conocer sus características analíticas y su error analítico total para después compararlo con especificaciones de calidad; así podremos saber si nuestro método cubre las características de calidad requeridas para utilizarse con muestras de pacientes sanos o con padecimientos diversos; es decir, si nuestro método cubre las necesidades diagnósticas de condiciones normales o anormales, cualquiera que sea la indicación médica del estudio, desde una biometría hemática normal como estudio preoperatorio hasta para el diagnóstico y seguimiento de cualquier hemopatía, sea benigna o neoplásica.

El concepto de validación es distinto al de verificación. En el caso particular de la validación, ésta se define como la verificación de que los requisitos especificados por el fabricante son adecuados para un uso previsto; asimismo, la validación se define como “la aportación de evidencia objetiva de que un elemento satisface un requisito especificado”. Aquí se encuentran dos términos que hacen la diferencia entre validación y verificación: “uso previsto” y “requisitos especificados”, respectivamente.

La validación de métodos es un procedimiento que permite saber qué voy a utilizar o cuál va a ser el uso previsto de mi sistema de medición; mientras que la verificación, a través del uso de ciertos protocolos (EP15 A2 CLSI es el más utilizado), permite obtener evidencia objetiva de que los requisitos especificados se han cumplido. Bajo el concepto de verificación, los fabricantes de reactivos y equipos definen los requisitos que tienen sus sistemas de medición, mismos que deben mantenerse en el laboratorio en condiciones de rutina, mientras que en la validación, las especificaciones de calidad se basan en los requerimientos médicos.

El objetivo de la validación de un método es conocer la magnitud del error del método y si este error puede afectar la interpretación de los resultados y el diagnóstico y seguimiento de los pacientes. Así, un proceso de validación permitirá saber si el método es útil como herramienta diagnóstica.

El inconveniente que ocurre en la realidad es que un paciente es referido de un hospital a otro, por lo que los estudios deben hacerse en diferentes laboratorios: en un laboratorio de Hematología o en una red de laboratorios bien organizada, como las que se tienen en las diferentes instituciones del sector salud o, incluso, en redes privadas

de hospitales o laboratorios. Para que la referencia y contrarreferencia de pacientes no afecten la confiabilidad, es indispensable que todos los instrumentos de medición instalados estén estandarizados. Esto se logrará cuando a todos los instrumentos se realice el mismo protocolo de verificación, el seguimiento de la verificación establecida y señalada a través de los mismos programas de control de calidad interno, la participación de todos los laboratorios en los mismos programas de evaluación externa de la calidad y los mismos programas de control de calidad externo. También se requiere que en programas comparativos interlaboratorios, puedan compararse las imprecisiones de todos los laboratorios de Hematología, con la creación de grupos pares comparativos de laboratorios afines. De esta manera, podrá afirmarse que en toda la red de laboratorios en donde se determinan las mediciones de los parámetros de un estudio de laboratorio del paciente hematológico la confiabilidad del resultado es la misma, sin importar dónde se realice.

La determinación de los errores al azar (aleatorios) es una medida de la precisión del sistema de medición. La precisión no suele representarse como un valor numérico, sino que se expresa cuantitativamente en términos de imprecisión, la desviación estándar (DE) o el coeficiente de variación (CV) de los resultados en una serie de mediciones repetidas. Desde un punto de vista práctico, en el laboratorio se determina la imprecisión con el coeficiente de variación. Otros factores que afectan las determinaciones en el laboratorio son los errores sistemáticos, que son errores que afectan los resultados en una dirección, ya sea positiva o negativamente, causando que los resultados sean elevados o bajos (sesgo).

El protocolo de verificación de un método o instrumento también requerirá la estimación de la linealidad, que determina el intervalo reportable del método; los estudios de replicación, que estimen la imprecisión o los errores aleatorios; los estudios de comparación de métodos, que estimarán la inexactitud o lo que se conoce como el error sistemático; los estudios de interferencia, que determinan los errores constantes y proporcionales del método y que son una medida de especificidad analítica de las determinaciones; el límite de detección, que para muchos mensurandos es importante, sobre todo, cuando los niveles bajos de éste tienen utilidad diagnóstica y que caracteriza la sensibilidad analítica de los sistemas de medición, además del índice acarreo de muestra en los sistemas automatizados que manejan muchas muestras y que ante un inadecuado proceso de lavados del instrumento pueden contaminar con el mensurando de una muestra previa. Todas estas estimaciones están consideradas en el protocolo EP15 A2 del CLSI (antes NCCLS), que es el más utilizado para verificar métodos e instrumentos de medición.

La verificación nos permite conocer cuál es el error total de un método y a partir de aquí, estableceremos qué especificaciones de calidad debemos establecer para determinar si la magnitud de éste es lo suficientemente grande como para afectar la interpretación de los resultados. En la bibliografía podemos encontrar un número de especificaciones de calidad basadas en variabilidad biológica, estado del arte (consenso de usuarios) o los requerimientos médicos, que consideran que el error del método es excesivo si tiene efectos en los resultados finales y puede producir o llevarnos a un diagnóstico incorrecto.



Estas especificaciones de calidad se han definido a concentraciones de nivel de decisión médica, que son los niveles de concentración del mesurando en los que existe la mayor probabilidad de que pueda cometerse algún error diagnóstico. En otras palabras y en sentido positivo, en dónde es importante que un método tenga el mejor desempeño por las decisiones médicas que se toman por un resultado de laboratorio y si al menos 70% de estas decisiones se toman apoyados en un resultado de laboratorio, la relevancia de establecer esto es indiscutible. Por ejemplo, en los niveles de decisión para establecer leucocitos totales normales o leucocitosis o en los niveles entre trombocitopenia leve y moderada, monocitosis y monocitos normales, así para cada parámetro medible e incluso calculado, de la biometría hemática.

#### **Cómo verificar la precisión (guía EP15A2 CLSI)**

Previo a la realización de la verificación de la precisión, es necesario tener un periodo de familiarización con el método, conocer los materiales de control a usar disponibles; estos materiales de control deben tener valores cercanos a los niveles de decisión médica y cercanos a los niveles especificados por el fabricante en los que éste determinó las especificaciones de precisión establecidas. Si es posible, deben usarse los mismos lotes de estos materiales usados, o ser muy similares en cuanto a las características de matriz y tipo de células que contiene con la sangre total humana (controles de primera y tercera opinión). Siempre será necesario calibrar el sistema de medición de acuerdo con las especificaciones del fabricante (calibración única o calibraciones múltiples). Una vez que se han tomado en cuenta estos factores, deberán analizarse dos o tres niveles de concentración del

material de control, cada uno por triplicado durante cinco días. Con los resultados obtenidos se calcula la desviación estándar dentro de la corrida, la variancia entre corridas y, finalmente, mediante la combinación de éstas se estima la desviación estándar dentro del laboratorio, mediante las fórmulas mostradas.

Es importante señalar la particularidad de los materiales de control para equipos automatizados o semiautomatizados de Hematología, debido a las características del material de control; por la inestabilidad de las células sanguíneas humanas, la sangre humana total como tal no puede utilizarse; por tanto, todos los materiales de control disponibles en el mercado, serán similares en mayor o menor medida, pero nunca idénticos; todos contienen glóbulos rojos humanos estabilizados, además de un componente de glóbulos blancos consistente en análogos humanos (sintéticos) y un componente de plaquetas que igualmente puede ser humano o análogo; todos en un medio conservante cuya matriz es plasma humano.

#### **Seis Sigma**

Es una metodología de calidad enfocada en la mejora continua de los procesos a través de la reducción de la imprecisión (variabilidad) en el ámbito del laboratorio clínico. Cuando las especificaciones de calidad establecidas, ya comentadas, conocidas también como límites analíticos de desempeño, se derivan de la variabilidad biológica o de las necesidades médicas, al aplicar esta herramienta, se transforman radicalmente y evolucionan de hacer control de calidad meramente estadístico a controlar la calidad para garantizar resultados médicamente útiles. Así el profesional del laboratorio interioriza el concepto Seis Sigma transformando la forma de validar los resultados de laboratorio. Cuando la imprecisión máxima

permitida establecida en una especificación analítica siempre se cumple y el error total máximo permitido nunca se rebasa, el valor de sigma de este parámetro, por tanto, siempre será de seis sigma o más, lo que significará que sólo se está produciendo hasta 3.4 resultados no confiables por millón de resultados realizados en el laboratorio.

#### **Comparación entre diferencial de serie blanca manual y automatizado (guía H20A2 CLSI)**

La observación directa al frotis del diferencial de serie blanca siempre será más confiable que la realizada por los sistemas ópticos de los instrumentos, por ello es un estudio que tiene más de 100 años y sigue siendo el método de referencia. El diferencial de serie blanca de los sistemas automatizados se verifica con la observación manual al microscopio simple, realizado por el personal profesional con que cuenta un laboratorio, considerado competente en la visualización de la morfología de las células sanguíneas. No obstante, debemos reconocer que dada la subjetividad de la observación al microscopio, existirán variaciones entre diferentes observadores del diferencial manual dentro de un mismo laboratorio, por lo que en la estandarización del laboratorio de Hematología se recomienda aplicar el protocolo de esta guía que evaluará los instrumentos de Hematología, automatizados y semiautomatizados por su capacidad para desarrollar una aceptable cuenta leucocitaria diferencial, con base en la comparación con el diferencial manual (visual). El estándar se enfocará en los leucocitos encontrados en los frotis de sangre periférica. Al realizar el protocolo de esta guía, mediremos la imprecisión de la observación del frotis manual de cada uno de los profesionales en un laboratorio de Hematología frente a la

observación de un experto, que se considerará el valor verdadero; asimismo, podremos medir la imprecisión entre los varios observadores que cuentan y reportan diferenciales manuales como complemento de la biometría hemática automatizada. Servirá también para unificar la forma de realizar los extendidos, leer los frotis, contar las células e incluso formas de preparar colorantes (donde sea válido) y teñir las laminillas.

**Cumplimiento con el control de calidad como forma de evaluar continuamente la estandarización de una metodología establecida en el laboratorio**

La biometría hemática es la prueba más solicitada en el laboratorio para determinar el número y características de las células sanguíneas para el diagnóstico, evolución, seguimiento y tratamiento de diversas enfermedades.

El control de calidad de la fase analítica conlleva establecer especificaciones de calidad que estarán midiendo continuamente. Es la forma de evaluar sistemáticamente una metodología verificada en nuestro laboratorio y finalmente, es un requisito normativo.

La NOM-007-2011 para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos establece que deberá aplicarse un programa de control interno de la calidad, que incluya las etapas preanalítica, analítica y postanalítica de cada examen. Para la etapa analítica, incluye la evaluación comparativa interlaboratorios. También obliga a participar al menos en un programa de control de calidad externo o de evaluación externa de la calidad, en el que deberán integrarse los estudios de laboratorio que se realicen y que incluya el programa, de acuerdo con las necesidades del laboratorio clínico en materia de calidad. También nos obliga a demostrar documentalmente que se

ha efectuado la evaluación de cada prueba incluida en los programas externos y a desarrollar una investigación dirigida para solucionar la problemática de los estudios de laboratorio en los que la calidad no sea satisfactoria. Estas exigencias también son requisitos a cumplir en los procesos de certificación de hospitales del Consejo de Salubridad General.

**Conclusiones**

Éstos son los componentes que deberá abarcar el proceso de estandarización en un laboratorio; no debemos olvidar que al realizarlo de manera puntual garantizaremos, como principal objetivo, la confiabilidad de un resultado para el médico que lo solicita con beneficio para el paciente al que se realiza; además, permitirá como proceso operativo garantizar su ejecución homogénea (certificación o cumplimiento de la normatividad oficial obligatoria) o demostrar un alto nivel en la competencia para su ejecución y obtención de resultados confiables y médicamente útiles (acreditación), ésta es, precisamente, la expectativa más valiosa de la estandarización en un laboratorio de Hematología.

**Laboratorio de Hematología: control de calidad y acreditación. Estandarización en el laboratorio de hemostasia**

*Gabriel Migliarino*

Director G Migliarino Consultores

Los procedimientos analíticos utilizados en el Laboratorio de Hemostasia no escapan al paradigma de la medición: "Los procedimientos que miden el mismo mensurando deben dar resultados comparables o equivalentes. Los resultados de las mediciones deben ser independientes del tiempo, laboratorio y procedimiento".

Uno de los principios básicos para lograr este objetivo es asegurar la

trazabilidad metrológica de las mediciones. Durante el simposio estudiaremos ejemplos de cadenas de trazabilidad en el campo de la hemostasia.

Otro eslabón importante para asegurar la utilidad clínica de los resultados que se emiten en el Laboratorio de Hemostasia es la verificación de los procedimientos analíticos. Con respecto a este punto trataremos diferentes protocolos aplicables a los métodos de hemostasia, entre ellos:

- Verificación de la precisión y evaluación del sesgo según lineamientos generales del protocolo EP15-A3 de la CLSI.
- Evaluación de la linealidad según lineamientos generales del protocolo EP6-A de la CLSI.
- Verificación del intervalo de referencia según lineamientos generales del protocolo EP28-A3c de la CLSI.
- Verificación de precisión binaria.
- Evaluación de sensibilidad y especificidad según lineamientos generales del protocolo EP12-A2 de la CLSI.

**Acreditación de laboratorios clínicos de hematología y coagulación con la norma ISO 15189**

*Isabel de la Villa*

Jefa de Departamento de Sanidad, Entidad Nacional de Acreditación de España

Han pasado ya 13 años desde que en 2003 se aprobó la primera versión de la norma ISO 15189. Esta norma vino a cubrir la demanda existente entre los profesionales de laboratorios clínicos de todo el mundo de disponer de una norma específica que contemplara requisitos para demostrar la competencia. La norma ISO 15189 contempla todos los procesos de un laboratorio clínico preanalíticos, analíticos y postanalíticos y está especialmente

enfocada al paciente como eje central de la actividad del laboratorio clínico.

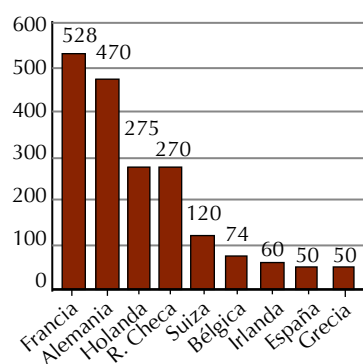
En 2012 se editó la primera gran revisión de la norma (se había producido una revisión menor en 2007), cuya versión española se publicó en 2013 (UNE-EN ISO 15189:2013). Esta nueva versión, sin incorporar grandes cambios en lo referente a requisitos, aporta mayor claridad en su contenido y está mejor estructurada, por lo que facilita su interpretación e implantación en los laboratorios clínicos. Es destacable la incorporación de un nuevo requisito, Gestión del riesgo, enfocado específicamente a la seguridad del paciente.

A lo largo de estos años el reconocimiento de la acreditación de laboratorios clínicos con esta norma no ha dejado de crecer. En estos momentos y dentro del entorno europeo es creciente el número de países en los que las autoridades sanitarias exigen la acreditación de laboratorios clínicos, ya sea para toda su actividad, es el caso de Francia, o para algunas especialidades o pruebas específicas como en Bélgica, República Checa y otros. En el caso de España, en 2015 el Ministerio de Sanidad estableció la exigencia de la acreditación para los laboratorios de Cribado neonatal que quieran ser designados como Centros de Referencia (CSUR). Cuadro 1

En este contexto, el número de laboratorios acreditados varía entre países, la obligatoriedad es un factor determinante, pero también el año de inicio de la acreditación, también se da la situación de países en los que, sin existir una exigencia de la acreditación, el número de laboratorios acreditados es muy alto y un gran porcentaje de su actividad se realiza bajo acreditación, como es el caso de Suecia y Finlandia que iniciaron la acreditación de laboratorios clínicos a principios del decenio de 1990 (Figura 1).

**Cuadro 1.** Países europeos en los que las autoridades sanitarias exigen la acreditación

Alemania	Cribado neonatal e inmunodeficiencias primarias
Bélgica	Biología molecular (oncología, genómica, virología)
Francia	Todos los laboratorios clínicos
Grecia	Laboratorios clínicos privados
Hungría	Todos los laboratorios clínicos
Irlanda	Inmunohematología (transfusión sanguínea)
Letonia	Todos los laboratorios clínicos
República Checa	Análisis genéticos (genoma humano)
España	Cribado neonatal (centros de referencia)



**Figura 1.** Número de laboratorios clínicos acreditados en algunos países europeos (resultados de la encuesta realizada en EA en 2015).

Para enero de 2016, 53 laboratorios clínicos están acreditados por la Entidad Nacional de Acreditación de España (ENAC) con alcances de acreditación que cubren todas las áreas y 23% de estos laboratorios lo están para alcance flexible. En la actualidad

un buen número de laboratorios están en proceso de acreditación y es previsible que, de manera similar a la situación de los países de nuestro entorno, en los próximos años la mayor parte de los laboratorios clínicos opten por la acreditación. Bioquímica clínica, Hematología y Genética son las áreas con mayor presencia en los alcances acreditados.

### Participación de las sociedades científicas

Para el desarrollo de este esquema de acreditación, ENAC puso en marcha una serie de actividades. Así, además de participar en actividades internacionales (participación en grupos de trabajo en EA e ILAC para garantizar la homogeneidad entre organismos de acreditación) desde la publicación de la norma ISO 15189 se promovió la colaboración con las sociedades científicas de todas las especialidades como forma de incorporar el más alto nivel de conocimiento técnico y profesional a los procesos de acreditación. En 2006 ENAC firmó un acuerdo de colaboración con la Asociación Española de Hematología y Hemoterapia y desde esa fecha se ha colaborado estrechamente proporcionando apoyo en las diferentes actividades que ENAC realiza:

- Colaboración en la elaboración de documentos: "CGA-ENAC-LCL Criterios generales de acreditación de Laboratorios Clínicos", "NT-48. Laboratorios clínicos: alcance de acreditación", que aportan la visión de los profesionales del laboratorio de hematología en la interpretación de la norma.
- Apoyo en la difusión de la acreditación, dirigida a los profesionales y a las autoridades sanitarias (con participación de ENAC en numerosos congresos y cursos).

- Información de expertos técnicos-aptos para actuar en los procesos de evaluación de ENAC dentro del área de la hematología.
- Identificación de los documentos de referencia en hematología para ser utilizados en los procesos de evaluación (por ejemplo, "Consensus Guidelines: Positive Smear Findings").
- Apoyo a ENAC en los aspectos técnicos controvertidos que pueden surgir en los procesos de acreditación.

Asimismo, ENAC informa a la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia de los aspectos en los que se observan mayores dificultades en los laboratorios (por ejemplo, actividades de aseguramiento de la calidad en equipos duplicados) de manera que la Sociedad, a través de sus comités técnicos, decide si se necesitan actividades formativas para sus asociados, elaboración de documentos técnicos o guías (en ocasiones, conjuntamente con otras sociedades científicas), etc. proporcionando así un elevado nivel técnico a los procesos de acreditación desarrollados por ENAC.

### Peripheral T-cell lymphomas

Barbara Pro

Robert H Lurie Comprehensive Cancer Center of Northwestern University, Chicago, IL

Peripheral T-cell lymphomas (PTCL) are a diverse group of lymphoproliferative disorders with different biological and clinical behavior. Comparatively to their B-cell counterparts, PTCLs are rare and more difficult to treat, either due to the paucity of large trials carrying the evidence to suggest specific therapeutic approaches, or due to the biology of the disease. When compared to B-cell NHL, the prognosis for PTCL remains poor, mainly due

to lower response rates and shorter duration of response to standard combination chemotherapy regimens.

PTCLs account for 10-15% of all NHLs in North America, and are characterized by the presence of malignant mature T-cells (derived from post-thymic T-cells) or NK cells.<sup>1</sup> Some forms of PTCL are more common, or have distinct molecular and clinical features that may dictate therapeutic choices, but, overall, PTCL has classically been treated with regimens adapted from B-cell lymphomas, with generally poor outcomes.

Mature T-cell lymphomas share the immunophenotypic features of post-thymic T lymphocytes, and can be distinguished into  $\alpha\beta$  T cells and  $\gamma\delta$  T cells, based on the structure of their T-cell receptors (TCR).  $\gamma\delta$  T cells are part of the innate immune system, together with NK-cells, and do not require antigen sensitization to be active. They are mainly found in the splenic red pulp and intestinal epithelium, and comprise less than 5% of all normal T-cells.<sup>2</sup> This is remarkable, in the sense that these sites are more commonly affected by  $\gamma\delta$ -T cell lymphomas, which rarely involve nodal sites.<sup>3</sup>

In 2008, the fourth edition of the World Health Organization (WHO) Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues<sup>4</sup> was published, and subdivided PTCL even further. While this was helpful in providing clinicians with more accurate information to predict prognosis, it has not translated, so far, into a guide for better therapeutic choices. The International T-cell and natural killer/T-cell lymphoma study<sup>5</sup> provided insight into the epidemiology of this group of diseases. Based on their results, the most common subtype of mature T-cell lymphomas is PTCL, non-otherwise specified (PTCL, NOS; 26%), followed by an-

gioimmunoblastic T cell lymphoma (AITL; 18.5%), anaplastic large cell lymphoma, ALK-positive (ALCL, ALK+; 7%) and anaplastic large cell lymphoma, ALK-negative (ALCL, ALK-; 6%). PTCLs show significant variation in geographic and racial distribution. In Asian populations, for instance, PTCLs are responsible for a larger proportion of NHL, which could be a result both from a true increased incidence, as well as a relative decrease of some subtypes of B-cell lymphomas. Another explanation would be the increased incidence of adult T-cell leukemia/lymphoma in regions where the human T-cell lymphotropic virus 1 (HTLV-1) is endemic, such as Japan and the Caribbean.

### Frontline therapy

There is no consensus regarding standard frontline therapy for PTCL. Commonly, CHOP (cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone) is the regimen most commonly used, despite evidence that, except for ALCL, ALK+, it is largely ineffective, as evidenced by a large retrospective analysis from the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group.<sup>6</sup> In this analysis, 343 patients with a diagnosis of PTCL were treated with 6 to 8 cycles of CHOP or CHOP plus etoposide (CHOEP). Three-year event-free survival (EFS) and OS for patients in the 4 major subtypes were 75.8% and 89.8% for ALK-positive ALCL; 50.0% and 67.5% for AITL; 45.7% and 62.1% for ALK-negative ALCL; 41.1% and 53.9% for PTCL-NOS. In younger patients with normal LDH, the addition of etoposide to CHOP significantly improved 3-year EFS (75.4% vs 51.0%,  $p < 0.003$ ), but there was no statistically significant difference in overall survival. More intensive chemotherapy regimens, such as hyperfractionated cyclophosphamide, vincristine, doxorubicin and prednisone (hyper-

CVAD) were compared to CHOP in a retrospective analysis by the MD Anderson group,<sup>7</sup> without any additional benefit. Clinical outcomes for 135 patients with previously untreated PTCL, who received frontline therapy were evaluated. The estimated 3-year OS for patients receiving CHOP was 62%, while for patients receiving intensive therapy it was 56%. When patients with a diagnosis of ALCL were excluded from the analysis, the 3-year OS was 43% for patients treated with CHOP and 49% for patients treated with intensive therapy. Additionally, the investigators identified parameters that may be independent prognostic factors in PTCL (excluding ALCL), such as ECOG performance status >2, beta-2-microglobulin level >2 mg/L, lactate dehydrogenase (LDH) level higher than normal, bulky disease  $\geq 7$  cm, and a higher international prognostic index (IPI).

#### **Autologous stem cell transplant**

Given the overall poor outcomes with conventional therapy as frontline treatment for PTCL, the role of high dose chemotherapy with autologous stem cell rescue (HDT/ASCR) has been studied as a consolidation option after successful frontline therapy. Several retrospective studies have reported favorable outcomes for consolidation HDT/ASCR, with 3-year OS and PFS ranging from 53%-58% and 44%-50%, respectively.<sup>8-19</sup> Prospective studies solidified the role of HDT/ASCR in PTCL by yielding positive outcomes in this patient population. To date, there are no published randomized trials comparing conventional chemotherapy alone to first-line consolidation with HDT/ASCR, so the true impact of this treatment modality on survival rates has not been completely established. In light of the available data, HDT/ASCR remains a reasonable treatment modality for patients with a good performance status who

present a significant response to frontline therapy.

#### **Relapsed/refractory disease**

Traditionally, refractory or relapsed PTCL has been treated with second-line chemotherapy regimens often followed by autologous or allogeneic transplant. However, the recent development of therapies specific to T-cell lymphomas is rapidly changing this paradigm. There are no large randomized trials evaluating transplant in relapsed and refractory disease, and our practices are derived mainly from retrospective data. A retrospective study by Le Gouill et al reported on 77 patients with PTCLs (84% ALCL, AITL, or PTCL-NOS) treated with allotransplant. PFS and OS were 53% and 57% respectively with a 43 months follow-up following allogeneic transplant.<sup>20</sup> Many of these patients had received at least two prior lines of therapy including autologous transplant (25%). Of note, AITL patients fared the best (OS rate 80%) followed by PTCL-NOS and ALCL (63% and 55%, respectively). Transplant-related mortality (TRM) was 21% at 100 days and 34% at 5 years. A study by Kyriakou et al. found similar PFS/OS for AITL patients, with chemotherapy-sensitive disease faring better.<sup>21</sup> Similar outcomes have been seen in other retrospective analyses, however early treatment-related mortality (TRM) remains a significant problem. It has been difficult to compare autologous and allogeneic transplant in the relapsed/refractory setting, but in general results appear to favor allogeneic transplant. However, a recent retrospective study by Smith et al<sup>22</sup> suggested a possible benefit in favor of autologous transplant. Of 241 patients with PTCL, 115 underwent autologous and 126 allogeneic transplant. Patients receiving autologous versus allogeneic transplant had significantly greater

adjusted 3-year OS (59% vs 47%,  $p=0.046$ ) and lower NRM or non-relapse mortality ( $p<0.001$ ). In the absence of mature data from trials of novel agents, transplant following chemotherapy remains the recommended option for patients considered good candidates.

#### **Salvage treatments for relapsed/refractory PTCL**

Transplant may not always be an option for PTCL patients due to presence of co-morbidities or unavailability of donors. There is a clear need for the development of therapies directed specifically towards T-cell neoplasms, and the field has advanced significantly in the last few years. Once again, there is a paucity of large randomized phase III studies, so we will review mainly data from phase two studies, as well as ongoing trials.

#### **Chemotherapy**

Among the various chemotherapeutic agents that have been investigated in the relapsed setting, the nucleoside analogue gemcitabine has shown significant activity. In a small study, 13 patients with PTCL-NOS and mycosis fungoides (MF) received single agent gemcitabine, and 9 of 13 patients responded.<sup>23</sup> The long-term outcome data for gemcitabine monotherapy in relapsed PTCL (PTCL-NOS and MF) was published in 2010 by the same group.<sup>24</sup> Five out of 20 patients with PTCL-NOS had continuous CR at the time of final follow-up, with a median duration of CR of 34 months (range 15-60 months).

In a small trial 24 elderly patients received treatment with gemcitabine in combination with oxaliplatin and dexamethasone; the ORR was 25% and the OS was 14 months.<sup>25</sup> The other chemotherapeutic agent that has shown promise in the treatment of PTCLs is bendamustine. Bendamustine is a "dual-structure" drug consisting of an alkylating portion, derived from nitrogen mustard, and a purine analog portion. An



open label phase II trial of bendamustine was conducted in patients with relapsed PTCL (primarily AITL and PTCL-NOS). Patients had received a median of one previous line of therapy, thus not heavily pretreated.<sup>26</sup>

In the intention to treat (ITT) analysis, the ORR was 50% (CR 28%) and the PFS and OS were 3.6 and 6.2 months, respectively. However, only 25% of patients completed the planned six cycles of bendamustine. Common reasons for early discontinuation included toxicities (cytopenia and infections) and disease progression. Future studies will likely incorporate bendamustine into multi-drug regimens.

#### **Antibody-directed therapy**

##### *Brentuximab Vedotin*

Systemic ALCL is characterized by strong CD30 positivity, and the search for an effective monoclonal antibody has been an active area of research in the field of PTCL. Brentuximab vedotin (BV) is an antibody-drug conjugate, comprising an anti-CD30 monoclonal antibody conjugated to the potent antimicrotubule agent monomethyl auristatin E (MMAE). The monoclonal antibody binds to CD30-positive neoplastic T-cells and is internalized, MMAE is then cleaved from the molecule exerting its action through inhibition of microtubule formation. Hence, a potent chemotherapeutic agent can be delivered in a targeted manner. A phase II multicenter study evaluated the activity of BV in 58 patients with systemic ALCL who had relapsed after at least one prior line of therapy.<sup>27</sup> The ORR was 86% (CR=57%, PR=29%) with a median overall response duration of 12.6 months, and CR duration of 13.2 months. Grade 3-4 adverse events included neutropenia, thrombocytopenia, and peripheral sensory neuropathy. On the basis of this study, BV was

approved by the FDA for use in relapsed systemic ALCL.

A recent phase 2 multicenter study evaluated the efficacy and safety of brentuximab vedotin in relapsed/refractory PTCL other than ALCL. Of 34 evaluable patients ( PTCL-NOS n=22, AITL n=13 ) ORR was 41% with a median PFS of 6.7 months. Interestingly, there was no correlation between CD30 expression and response.<sup>28</sup> A strategy of combining standard frontline therapy (CHP) with BV was shown to be safe and effective in a phase I trial, and is now being tested in an international randomized phase 3 trial comparing CHOP to CHP-BV as upfront therapy for CD30 positive PTCL.

#### **Folate analogs: pralatrexate**

Pralatrexate is a novel folate analogue with improved membrane transport and polyglutamylolation within tumor cells. Early phase I/II studies of pralatrexate in patients with relapsed B- or T- cell lymphomas established a significant activity in PTCL, with an ORR of 54%.<sup>29</sup> In an important prospective phase II trial, 115 PTCL patients (109 evaluable) received pralatrexate 30 mg/m<sup>2</sup> weekly for 6 out of 7 weeks. Overall response rate was 29%,<sup>29</sup> and median PFS and OS were 3.5 months and 14.5 months respectively. Pralatrexate was the first FDA-approved agent for the treatment of patients with relapsed/refractory PTCL.

#### **Histone deacetylase inhibitors**

The histone deacetylase (HDAC) inhibition is an important therapeutic strategy based on the principle that increased histone acetylation leads to enhanced tumor-suppressor gene transcription, cell cycle regulation, apoptosis induction, DNA repair, protein acetylation, and induction of autophagy. Romidepsin, a potent selective HDAC-I inhibitor was evaluated in a single-arm, phase II, international prospective trial which enrolled 131 patients. Patients with

relapsed/refractory disease received romidepsin at a dose of 14 mg/m<sup>2</sup>. The ORR was 25%, including 15% complete response/unconfirmed complete response (CR/CRu). The median duration of response was 17 months, and among patients who achieved CR/CRu, 89% had not progressed at 13.4 months. Toxicities (cytopenias and infections) were tolerable. Consequently, this drug was FDA approved for relapsed/refractory PTCL.<sup>30</sup>

The success of romidepsin led to the exploration of other HDAC inhibitors. Belinostat or PXD 101, a hydroxamate HDAC I and II inhibitor, was evaluated in a phase I and then phase II multicenter clinical trials. In 19 patients with relapsed/refractory T-cell lymphoma, the ORR was 32% and median duration of response 268+ days. A larger phase II trial was recently reported, and enrolled 129 patients with relapsed/refractory PTCL following at least one prior therapy.<sup>31</sup> ORR was 26-28%, with median duration of response 8.3 months. Additionally, belinostat was very well tolerated, suggesting that it can be used in combination with other agents.

#### **Summary**

In summary, PTCL represents a unique group of neoplasms characterized by marked molecular heterogeneity and poor response to conventional chemotherapy regimens. The addition of etoposide to CHOP (CHOEP) appears to be an effective up-front therapy in select patients and alternative regimens to CHOP are currently being explored. Various approaches to consolidation have been studied, including stem cell transplant, chemotherapy, and novel immunotherapies. However, consolidation with autologous transplant is still considered the standard approach with the exception of low-risk ALK+ ALCL, even in the absence of randomized phase 3 trials. Allogeneic transplant is usual-

lly reserved for relapsed disease and has variable outcomes. The novel agents romidepsin, belinostat, pralatrexate and brentuximab vedotin (for systemic ALCL), are currently FDA approved in the relapsed or refractory setting. The future of treating PTCL will likely involve incorporation of these and other novel agents in frontline regimens and a number of studies are already exploring newer combinations.

## REFERENCIAS

1. Savage KJ. Peripheral T-cell lymphomas. *Blood Rev* 2007;21:201-216.
2. Delves PJ, Roitt IM. The immune system. First of two parts. *N Engl J Med* 2000;343:37-49.
3. Belhadj K, Reyes F, Farcet JP, Tilly H, et al. Hepatosplenic gammadelta T-cell lymphoma is a rare clinicopathologic entity with poor outcome: report on a series of 21 patients. *Blood* 2003;102:4261-4269.
4. Swerdlow SH. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2008.
5. Vose J, Armitage J, Weisenburger D. International peripheral T-cell and natural killer/T-cell lymphoma study: pathology findings and clinical outcomes. *J Clin Oncol* 2008;26:4124-4130.
6. Schmitz N, Trümper L, Ziepert M, Nickelsen M, et al. Treatment and prognosis of mature T-cell and NK-cell lymphoma: an analysis of patients with T-cell lymphoma treated in studies of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group. *Blood* 2010;116:3418-3425.
7. Escalon MP, Liu NS, Yang Y, Hess M, et al. Prognostic factors and treatment of patients with T-cell non-Hodgkin lymphoma: the M. D. Anderson Cancer Center experience. *Cancer* 2005;103:2091-2098.
8. Kim MK, Kim S, Lee SS, Sym SJ, et al. High-dose chemotherapy and autologous stem cell transplantation for peripheral T-cell lymphoma: complete response at transplant predicts survival. *Ann Hematol* 2007;86:435-442.
9. Schetelig J, Fetscher S, Reichle A, Berdel WE, et al. Long-term disease-free survival in patients with angioimmunoblastic T-cell lymphoma after high-dose chemotherapy and autologous stem cell transplantation. *Haematologica* 2003;88:1272-1278.
10. Yang DH, Kim WS, Kim SJ, Bae SH, et al. Prognostic factors and clinical outcomes of high-dose chemotherapy followed by autologous stem cell transplantation in patients with peripheral T cell lymphoma, unspecified: complete remission at transplantation and the prognostic index of peripheral T cell lymphoma are the major factors predictive of outcome. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15:118-125.
11. Feyler S, Prince HM, Pearce R, Towson K, et al. The role of high-dose therapy and stem cell rescue in the management of T-cell malignant lymphomas: a BSBMT and ABMTRR study. *Bone Marrow Transplant* 2007;40:443-450.
12. Jantunen E, Wiklund T, Juvonen E, Putkonen M, et al. Autologous stem cell transplantation in adult patients with peripheral T-cell lymphoma: a nation-wide survey. *Bone Marrow Transplant* 2004;33:405-410.
13. Kyriakou C, Canals C, Goldstone A, Caballero, et al. High-dose therapy and autologous stem-cell transplantation in angioimmunoblastic lymphoma: complete remission at transplantation is the major determinant of Outcome-Lymphoma Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *J Clin Oncol* 2008;26:218-224.
14. Rodriguez J, Conde E, Gutiérrez A, Arranz R, et al. The results of consolidation with autologous stem-cell transplantation in patients with peripheral T-cell lymphoma (PTCL) in first complete remission: the Spanish Lymphoma and Autologous Transplantation Group experience. *Ann Oncol* 2007;18:652-657.
15. Rodriguez J, Conde E, Gutiérrez A, Arranz R, et al. Frontline autologous stem cell transplantation in high-risk peripheral T-cell lymphoma: a prospective study from The Gel-Tamo Study Group. *Eur J Haematol* 2007;79:32-38.
16. d'Amore F, Relander T, Lauritzen GF, Jantunen E, et al. Up-front autologous stem-cell transplantation in peripheral T-cell lymphoma: NLG-T-01. *J Clin Oncol* 2012;30:3093-3099.
17. Corradini P, Tarella C, Zallio F, Doderio A, et al. Long-term follow-up of patients with peripheral T-cell lymphomas treated up-front with high-dose chemotherapy followed by autologous stem cell transplantation. *Leukemia* 2006;20:1533-1538.
18. Mercadal S, Briones J, Xicoy B, Pedro C, et al. Intensive chemotherapy (high-dose CHOP/ESHAP regimen) followed by autologous stem-cell transplantation in previously untreated patients with peripheral T-cell lymphoma. *Ann Oncol* 2008;19:958-963.
19. Reimer P, Rüdiger T, Geissinger E, Weissinger F, et al. Autologous stem-cell transplantation as first-line therapy in peripheral T-cell lymphomas: results of a prospective multicenter study. *J Clin Oncol* 2009;27:106-113.
20. Le Gouill S, et al. Graft-versus-lymphoma effect for aggressive T-cell lymphomas in adults: a study by the Société Française de Greffe de Moëlle et de Thérapie Cellulaire. *J Clin Oncol* 2008;26:2264-2271.
21. Kyriakou C, et al. Allogeneic stem cell transplantation is able to induce long-term remissions in angioimmunoblastic T-cell lymphoma: a retrospective study from the lymphoma working party of the European group for blood and marrow transplantation. *J Clin Oncol* 2009;27:3951-3958.
22. Smith SM, et al. Hematopoietic cell transplantation for systemic mature T-cell non-Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol* 2013;31:3100-3109.
23. Zinzani PL, et al. Therapy with gemcitabine in pretreated peripheral T-cell lymphoma patients. *Ann Oncol* 1998;9:1351-1353.
24. Zinzani PL, et al. Gemcitabine as single agent in pretreated T-cell lymphoma patients: evaluation of the long-term outcome. *Ann Oncol* 2010;21:860-863.
25. Yao YY, et al. Gemcitabine, oxaliplatin and dexamethasone as salvage treatment for elderly patients with refractory and relapsed peripheral

- T-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2013;54:1194-1200.
26. Damaj G, et al. Results from a prospective, open-label, phase II trial of bendamustine in refractory or relapsed T-cell lymphomas: the BENTLY trial. *J Clin Oncol* 2013;31:104-110.
  27. Pro B, et al. Brentuximab vedotin (SGN-35) in patients with relapsed or refractory systemic anaplastic large-cell lymphoma: results of a phase II study. *J Clin Oncol* 2012;30:2190-2196.
  28. Oki, Y. Safety and efficacy of brentuximab vedotin for treatment of relapsed or refractory mature T-/NK-cell lymphomas. *Hematol Oncol* 2013;31:1-22.
  29. O'Connor OA, et al. Pralatrexate in patients with relapsed or refractory peripheral T-cell lymphoma: results from the pivotal PROPEL study. *J Clin Oncol* 2011;29:1182-1189.
  30. Coiffier B, et al. Results from a pivotal, open-label, phase II study of romidepsin in relapsed or refractory peripheral T-cell lymphoma after prior systemic therapy. *J Clin Oncol* 2012;30:631-636.
  31. O'Connor OA, et al. Belinostat, a novel pan-histone deacetylase inhibitor (HDACi), in relapsed or refractory peripheral T-cell lymphoma (R/R PTCL): Results from the BELIEF trial. *J Clin Oncol* 2013;31.

### Hodgkin lymphoma: a therapeutic success and its treatment in low and middle income countries

Angela C Herman, Pedro A de Alarcon E

University of Illinois College of Medicine at Peoria

#### Introduction

Hodgkin lymphoma (HL) has become a very treatable malignant disorder in high-income countries. Unfortunately, this success has not been fully translated to low and middle-income countries. Because of this therapeutic success and its frequency worldwide, HL is a model of how effective therapy designed in high-income countries can serve as a model and

be adapted so successful therapy can be provided to children all over the world. These efforts have seen successes in Africa, Asia, Oceania and Latin America through the adaptation of treatment strategies applicable at the local level. We will provide a birds-eye view of HL as it has evolved through the twentieth and now the twenty-first century.

#### Historical perspective

The first description of the symptomatology and disease process of HL dates to about 1832. The first description of the histopathology of Hodgkin is attributed to both Sternberg and Reed 1898 who describe separately the cell that has their name. The disorder was named Hodgkin Disease in 1865 after Dr. Hodgkin who had provided a more extensive description of the disease. Pusey introduced radiation therapy for the treatment of lymphomas in 1902. The therapy proved to be very effective in the treatment of HL. Nitrogen mustard clinical trials for lymphomas in the 1940's documented its effectiveness and in 1970 Vince De Vita introduced the first effective combination chemotherapy for the treatment of HL, MOPP, consisting of nitrogen mustard, vincristine, prednisone and procarbazine.

#### Evolution of therapeutic approaches

Many variations of the four-drug regimen and intensification by adding other drugs characterized the evolution of the treatment of HL. Bonadona and coworkers introduced the first substitution regimen attempting to decrease toxicities and to rescue patients that had recurred after MOPP therapy. This regimen, ABVD, doxorubicin, bleomycin, vinblastine and dacarbazine is still widely used. Health providers caring for adult subjects tended to use either combination chemotherapy or radiation therapy while health providers caring for children tended

to use combinations of both multi-agent chemotherapy combined with radiation therapy.

#### Current therapeutic approaches in pediatrics

Through clinical trials in adults as well as children, a series of risk groups have been defined. Although these risk groups are not uniform, a general principle of having a risk adapted treatment approach has become universal in the treatment of HL. The first prognostic parameter to be defined was the disease burden as reflected by clinical stage and categorized by the Ann Arbor stage classification, which included extent of disease and symptomatology. Unfortunately, there is no uniform risk classification and each cooperative has come up with slightly different risk groups (Table 1). In more recent years, laboratory parameters, mostly used in adult care, and response to therapy, used by both adult and pediatric treatment regimens, have further stratified the risk groups. Using this risk and response adapted therapy, the treatment of HL has improved dramatically over the past two decades. The reported five-year event free survival ranges between 80-90% with combined modality chemotherapy and radiotherapy. However, 10- 15% of patient with localized disease and 25% of patients with advanced classical HL (cHL) have recurrent disease after first line therapy treatment. Refractory patients are also problematic occurring in 2-5% of patient with low stage (I/II) and 5-10% of high stage (III/IV) cHL.

This tremendous success has come with a price. At thirty years of follow up, more patients have died of complications of therapy than from their initial diagnosis of HL. These complications are second malignant neoplasms, cardiac disease, pulmonary disease and endocrine complications. Because

**Table 1.** Comparison of risk classifications from different cooperative groups

Group	Risk	Stage							
		I	IB	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVB
AHOPCA	Low								
	Intermediate			X					
	High								
COG	Low								
	Intermediate	E		E					
	High	X		X					
EuroNet	TG1 low								
	TG2 intermediate	E	E						
	TG3 high				E	E			
St Jude/Farber/Stanford	Low								
	Intermediate	E		E					
	High	mX		mX					

AHOPCA: Association of Pediatric Hematology Oncology of Central America; COG: Children's Oncology Group; EuroNet: European Hodgkin Lymphoma Cooperative Group; St Jude/Farber/Stanford: St Jude Children's Research Hospital, Dana Farber Cancer Institute, Stanford University Pediatric Hodgkin Lymphoma Consortium; X: bulky; mX: bulky mediastinum; E: extension; A: no symptoms; B: symptomatic.

of these complications, a new paradigm regarding treatment has come about. Given that we can cure the vast majority of patients, how much therapy do they need? How can we decrease therapy to decrease the long-term effects and yet maintain or high cure rate?

#### Treatment of recurrent disease

Retrieval of patients with relapse and refractory HL can be achieved with the use of salvage chemotherapy that includes front-line chemotherapy agents and high dose therapy (HDT) followed by autologous stem cell reconstitution (ASCR). However, it is not clear that all patients with refractory/relapse HL need to undergo HDT followed by ASCR. We have learned that subjects who relapse after one year from therapy have a better prognosis and may be able to be rescued with conventional chemotherapy. We also know that as therapy has evolved, subjects may have received mini-

mal upfront therapy and may also be able to be rescued with a more conventional dosing of therapy. The Children's Oncology Group has devised an algorithm based on several prognostic parameters suggesting which patients may be rescued with conventional therapy, which need HDT and rescue and which need new approaches to therapy.

#### Future perspectives of therapy

As we learn more about the biology of HL, newer targeted therapies have emerged. Brentuximab vedotin, an anti-CD30 antibody linked to a microtubular inhibitor, produced excellent responses in relapse subjects and is now moving to the front line therapy of HL. The creation of target specific t-cells is also an exciting new therapy. Other exciting therapies include PD-1 antibodies (nivolumab and pembrolizumab), anti-CD20 antibodies (Rituximab), histone deacetylase inhibitors (HDAC), mTOR inhibitors,

JAK-2 inhibitors and the bifunctional alkylating agent bendamustine. These are some of the exciting therapies coming up for recurrent/refractory disease that, depending on their toxicity profile, may move to upfront therapy (Table 2).

#### Translation of therapeutic approaches to low and middle-income countries

The overall event free survival (EFS) for HL in high-income countries now exceeds 85%. Unfortunately, this is not the case in middle and low-income countries. However, a therapy adapted to the resources available in these countries can achieve excellent results. Sequential trials in Central America have improved the EFS by the choice of treatment regimens and social interventions to decrease abandonment of therapy. Adaptation of therapy depending on the availability of medications, diagnostic test, pathology and supportive therapy can determine what type of therapy is appropriate for the clinical setting available from centers where only minimal chemotherapy can be given to centers where a complex risk and response based therapy can be implemented (Table 3).

#### Summary and conclusions

**Table 2.** New agents in the treatment of Hodgkin Lymphoma

Agent	Target
Brentuximab vedotin	Anti-CD30 antibody-drug conjugate
Bendamustine	Bifunctional alkylating agent
Panobinostat	HDAC inhibitor
Mocetinostat	HDAC inhibitor
Everolimus	mTOR inhibitor
Pacritinib	JAK2-inhibitor
Rituximab	Anti-CD20 antibody
Lenalidomide	Immunomodulator
Nivolumab	Anti-PD1 antibody
Pembrolizumab	Anti-PD1 antibody

**Table 3.** Approach to treatment of HL in low and middle-income countries

	No pathology available only physical examination	Histopathology available. No immune-histochemistry	Immunohistochemistry plain radiology and sonogram	Ct scans and MRI	CT Scan, MRI and PET available
Limited availability of medications	COPP/ABV AVBD				
Outpatient facility only		COPP/AVB AVBD			
Outpatient and inpatient facility available ± radiation			AVBD COPP/AVB OEPA/COPDac AVBE-PC Stanford V		
Additional support services available + radiation				AVBD COPP/ABV OEPA/COPDac AVBE-PC BEACOPP Stanford V	
Plus radiation therapy and ethics committee					All of the treatment regimens ± research protocols

HL is a very treatable disorder with EFS greater than 85% and overall survival of greater than 90%. Unfortunately, long-term effects are significant. Current therapy tailored by risk assessment and response to therapy can allow a decrease in therapy to ameliorate long-term effects. New targeted therapy may substitute traditional cytotoxic chemotherapy and decrease further side effects. The decreased survival reported from middle and low-income countries can be improved by adapting regimens to the level of health resources available in the respective country and social interventions to decrease abandonment of therapy that is one of the major causes of failure in middle and low-income countries.

**BIBLIOGRAPHY**

1. Fedele R, Martino M, Recchia AG, Irrera G, et al. Clinical options in relapsed or refractory Hodgkin lymphoma: An updated review. *J Immunol Res* 2015;968212.

2. Giulino-Roth L, Keller FG, Hodgson DC, Kelly KM. Current approaches in the management of low risk Hodgkin lymphoma in children and adolescents. *Br J Haematol* 2015;169:647-660.

3. Howard SC, Ribeiro RC, Pui CH. Strategies to improve outcomes of children with cancer in low-income countries. *Eur J Cancer* 2005;41:1584-1587.

4. Kelly KM. Hodgkin lymphoma in children and adolescents: improving the therapeutic index. *Blood* 2015;126:2452-2458.

5. King MT, Donaldson SS, Link MP, Natkunam Y, et al. Management of nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma in the modern era. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2015;92:67-75.

6. Mauz-Korholz C, Metzger ML, Kelly KM, Schwartz CL, et al. Pediatric Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol* 2015;33:2975-2985.

7. Satwani P, Ahn KW, Carreras J, Abdel-Azim H, et al. A prognostic model predicting autologous transplantation outcomes in children, adolescents and young adults with Hodgkin lymphoma. *Bone Marrow Transplant* 2015;50:1416-1423.

8. Shankar AG, Kirkwood AA, Hall GW, Hayward J, et al. Childhood and adolescent nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma - A review of clinical outcome based on the histological variants. *Br J Haematol* 2015.

**Acondicionamiento en alotrasplante: ¿convencional o de intensidad reducida?**

*César O Freytes*  
Texas Transplant Institute, profesor adjunto de Medicina, University of Texas Health Science Center, San Antonio

**Introducción**

Tradicionalmente, el acondicionamiento previo a trasplante alogénico se hacía con dos propósitos: destruir las células tumorales y causar inmunosupresión en el receptor de manera que pudiera aceptar el injerto o, en otras palabras, evitar rechazo. De manera inicial, se administraban las dosis más altas de quimioterapia posibles porque se pensaba que



éste era el único mecanismo para controlar la malignidad tratada con el trasplante alogénico.<sup>1,2</sup> La alta incidencia de efectos secundarios causados por las altas dosis de quimioterapia o radioterapia representó una limitación enorme en la realización de estos trasplantes. En particular, los pacientes mayores y los que padecían otras enfermedades crónicas o debilitantes como enfermedades cardiovasculares y otras enfermedades crónicas no eran elegibles para someterse a este tratamiento intenso. La edad promedio de los pacientes con malignidades hematológicas es de 60 a 70 años, lo que *de facto* elimina a la mayoría de los pacientes que pudieran beneficiarse de un trasplante hematopoyético.

Hoy día se acepta que un mecanismo importante en la erradicación tumoral de los trasplantes alogénicos se debe al fenómeno “injerto contra tumor”. Este mecanismo consiste en la erradicación de células malignas que hayan sobrevivido el acondicionamiento por células T y otras células del sistema inmunitario. Aunque este concepto se concibió hace varias décadas, a finales del siglo pasado se utilizó frecuentemente en la práctica de trasplantes alogénicos,<sup>3</sup> debido, en parte, a que la efectividad del injerto contra tumor varía de enfermedad en enfermedad (Cuadro 1) y por mucho tiempo se debatió la utilidad de estos procedimientos en el tratamiento de diferentes tipos de tumores.

#### Intensidad de los acondicionamientos pretrasplante

Por mucho tiempo hubo confusión en la caracterización de la intensidad de los regímenes de acondicionamiento pretrasplante. Hoy día hay consenso de las definiciones de los diferentes tipos de acondicionamiento pretrasplante (Cuadro 2).<sup>4</sup> En general, los acondicionamientos convencionales

**Cuadro 1.** Susceptibilidad de varias enfermedades al efecto injerto contra malignidad\*

#### Alta susceptibilidad

Leucemia crónica granulocítica  
 Leucemia linfocítica crónica  
 Linfoma de bajo grado  
 Linfomas de células del manto

#### Susceptibilidad intermedia

Leucemia mieloide aguda  
 Linfoma de grado intermedio  
 Linfoma de Hodgkin

#### Poca susceptibilidad

Leucemia linfocítica aguda  
 Linfoma de alto grado

\* Modificado de la referencia 1.

**Cuadro 2.** Definición de los acondicionamientos pretrasplante

#### Convencional (ablatoivo)

Irradiación total corpórea (ITC)  $\geq 5$  Gy en una dosis  $\geq 8$  en fracciones  
 Busulfan  $> 8$  mg/kg  
 Ciclofosfamida 200 + globulina anti-timocítica (GAT)

#### Acondicionamiento no ablatoivo

ITC  $\leq 2$  Gy  $\pm$  fludarabina  
 Cy + flu  $\pm$  rituximab  $\pm$  GAT  
 Fludarabina + AraC + idarubicina  
 ITC + GAT

#### Irradiación total linfoide + GAT

#### Acondicionamiento de intensidad reducida

Fludarabina + melfalán  $\pm$  alemtuzumab o GAT  
 Busulfan + fludarabina

Modificado de la referencia 1.

ITC: irradiación total corpórea; Gy: grays; Cy: ciclofosfamida, GAT: globulina anti-timocítica.

(mieloablatoivos) producen pancitopenia de larga duración y no se espera que se recupere la función hematopoyética si no se practica un trasplante de células madres hematopoyéticas. En contraste, el acondicionamiento “no mieloablatoivo” produce mielosupresión reversible y la recuperación de la función hematopoyética se espera en aproximadamente un mes. Los acondicionamientos no mielo-

ablatoivos usualmente consisten de dosis bajas de irradiación total corpórea. Los acondicionamientos de intensidad reducida representan una intensidad intermedia. Éstos requieren trasplante de células hematopoyéticas, pero se administran dosis menores y menos tóxicas de quimioterapia o radioterapia. Los acondicionamientos de intensidad intermedia generalmente incluyen un agente alquilante, como busulfán o melfalán en combinación con un análogo de las purinas, habitualmente fludarabina. Hace poco se añadieron anticuerpos monoclonales y radioinmunoterapia a los acondicionamientos de intensidad reducida para tratar de aumentar la capacidad antitumoral.

#### Selección del régimen de acondicionamiento

Una gran ventaja de los acondicionamientos de intensidad reducida y de los no mieloablatoivos es que permiten que pacientes de edad más avanzada y los que tienen enfermedades crónicas puedan recibir un trasplante que no hubiese sido posible utilizando acondicionamientos convencionales. Como es de esperarse, la morbilidad y mortalidad asociadas con enfermedades hematológicas es de 60 o 70 años. Sin embargo, algunos estudios realizados en pacientes que han recibido trasplantes la mortalidad debida a estos tipos de trasplante es menor que la relacionada con trasplantes donde se usan regímenes convencionales.<sup>5</sup> Por esta razón, hoy día, muchos programas practican más trasplantes de intensidad reducida que trasplantes convencionales. Esto no es del todo sorprendente, pues la edad promedio de los regímenes de intensidad reducida han demostrado una incidencia mayor de recidiva comparado con estudios de trasplantes convencionales.

A pesar de que los trasplantes de acondicionamiento reducido se han efectuado durante varios años, hay

muy pocos estudios controlados que comparen estas modalidades de trasplante. La mayor parte de los esquemas de acondicionamiento de intensidad reducida provienen de publicaciones de instituciones individuales o de registros, lo que hace difícil, si no imposible, establecer con certeza que una modalidad de tratamiento es superior a otra en el tratamiento de diferentes enfermedades. Un metanálisis de pacientes con leucemia aguda (mieloide y linfocítica) que incluyó más de 23 estudios demostró que la supervivencia de pacientes que recibieron trasplantes con acondicionamiento reducido fue similar a la de los pacientes que recibieron trasplantes convencionales, a pesar de que eran de mayor edad y tenían más enfermedades.<sup>6</sup> Sin embargo, estos pacientes sufrieron más recidivas que los pacientes que recibieron trasplantes convencionales. Lo anterior se debió, en parte, a la mortalidad más baja asociada con el trasplante en pacientes que recibieron acondicionamiento reducido que en pacientes que recibieron trasplantes convencionales. Los pacientes tratados con acondicionamiento de intensidad reducida que más se beneficiaron fueron los que estaban en remisión completa al momento de trasplantarse. Debe tenerse en cuenta que éste no fue un estudio controlado y que hay muchas razones intangibles por las que se escogieron pacientes para someterse a trasplante.<sup>7</sup> Es necesario hacer estudios controlados para contestar esta importante pregunta. Sin embargo, recientemente los Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos interrumpieron un estudio fase 3 que comparaba estas modalidades de tratamiento porque los resultados en pacientes que recibieron trasplantes convencionales fueron muy superiores a los de los pacientes tratados con trasplantes de acondicionamiento de intensidad reducida.

En vista de la falta de evidencia clínica firme se utilizan varias estrategias terapéuticas.<sup>1,2</sup> En general, debe considerarse utilizar el acondicionamiento menos tóxico que pueda lograr el mejor resultado clínico. Los acondicionamientos de intensidad reducida y no mieloablativos se deben proporcionar a pacientes con enfermedades más susceptibles al fenómeno injerto contra malignidad, como linfomas de bajo grado o leucemia linfocítica crónica. En las enfermedades que son erradicadas más eficientemente por altas dosis de quimioterapia o radioterapia y que no son muy susceptibles al fenómeno injerto contra malignidad deben darse acondicionamientos convencionales, excepto en pacientes de edad avanzada y en sujetos con enfermedades que afecten la función de órganos vitales, como la función cardiovascular y pulmonar, mismas que hacen un trasplante convencional prohibitivo. La decisión del tipo de trasplante debe tomar en cuenta no sólo la edad, sino la capacidad funcional, al igual que la fragilidad del paciente. También deben utilizarse índices que toman en consideración otras enfermedades del paciente, como el descrito por Sorror, que ayudan a predecir el riesgo de mortalidad asociada con el trasplante.<sup>8</sup> Aunque la edad del paciente por sí sola no predice del todo la morbilidad o mortalidad de un paciente sometido a trasplante, muchos centros limitan la realización de trasplantes convencionales a pacientes de menos de 55 o 60 años, pero realizan trasplantes con acondicionamiento reducido o no mieloablativo en pacientes de hasta 70 o 75 años, según los factores mencionados.

#### Resumen

No hay duda de que los trasplantes de intensidad reducida, al igual que los trasplantes no mieloablativos, han permitido que pacientes de edad avanzada y con

comorbilidades se traten con trasplantes hematopoyéticos que no hubiesen sido posibles con acondicionamientos convencionales. Estos trasplantes han sido más efectivos en pacientes con enfermedades susceptibles al fenómeno injerto contra tumor, como los linfomas de grado bajo y leucemia linfocítica crónica. La causa más común de fracaso terapéutico es la recidiva y el fenómeno de injerto contra huésped. Es necesario desarrollar acondicionamientos más efectivos para erradicar más células tumorales y potenciar el fenómeno injerto contra tumor. Hacen falta estudios controlados que puedan guiar la práctica clínica en la utilización de estas modalidades de tratamiento.

#### REFERENCIAS

1. Pingali SR, Champlin RE. Pushing the envelope—nonmyeloablative and reduced intensity preparative regimen for allogeneic hematopoietic transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2015;50:1157-1167.
2. Gyurkocza B, Sandmaier BM. Conditioning regimens for hematopoietic cell transplantation: one size does not fit all. *Blood* 2014;124:344-353.
3. Weiden PL, Flournoy N, Thomas ED, et al. Antileukemic effect of the graft-versus-host disease in human recipients of allogeneic marrow grafts. *N Engl J Med* 1979;300:1068-1073.
4. Bacigalupo, Ballen K, Rizzo D, et al. Defining the intensity of conditioning regimens: working definitions. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15:1628-1633.
5. Bacher U, Klyuchnikov E, LeRademacher J, et al. Conditioning regimens for allotransplants for diffuse large B-cell lymphoma: myeloablative or reduced intensity? *Blood* 2012;120:4256-4262.
6. Abdul Wahid SF, Ismail NA, Mohd-Idris MR, et al. Comparison of reduced-intensity and myeloablative conditioning regimens for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with acute myeloid

leukemia and acute lymphoblastic leukemia: A meta-analysis. *Stem Cells Dev* 2014;23:2535-2352.

7. Gale RP. Reduced intensity transplants conventional transplants or chemotherapy for acute myeloid leukemia in 1st remission: who knows; ask your wife? *Leukemia* 2015;29:1148-1149.
8. Sorror ML, Barris MB, Storb R, et al. Hematopoietic stem cell (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT. *Blood* 2005;106:2912-2929.

### Haploidentical transplantation—extending hematopoietic stem-cell transplantation to most patients in need

*Stefan O Ciurea*

Associate Professor, Department of Stem Cell Transplantation and Cellular Therapy, University of Texas MD Anderson Cancer Center

#### Introduction

Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is an established treatment for advanced malignant and non-malignant hematological disorders. The use of HSCT has continuously increased from the first allogeneic transplant performed in 1957 to approximately 10,000 by 1985, 100,000 transplants by 1995, and approximately 1,000,000 by 2012.<sup>1</sup> In allogeneic HSCT, cure from a hematological malignancy is believed to rely not only on conditioning chemotherapy regimen but also on the graft-versus-tumor (GVT) effects.<sup>2</sup> Significant progress has been made continuously and outcomes with allogeneic transplantation have improved significantly over time.<sup>3</sup> Despite this increase number of transplants and improvement in outcomes, it is believed that this procedure is still significantly underutilized.<sup>4</sup> Donor availability has been an important limitation for allogeneic HSCT. A matched related donor (MRD) is preferred; however, such donor is available only in approxi-

mately 25-30% of the patients [5]. Moreover, availability of a matched unrelated donor (MUD) varies widely with the patient's race, ranging between 60-70% for Caucasians to 20% or less for African-Americans and Asians.<sup>5</sup> This problem is more acute in the developing countries where costs of acquisition of unrelated donor cells or to maintain unrelated donor registries are prohibitive. In addition, other important limitations associated with the use of unrelated donor cells are a delay in acquisition of donor cells of average 3-4 months and donor availability. Mismatched relatives represent an alternative source of readily available progenitor cells for almost all patients. Haploidentical donors are usually highly motivated to donate with no cost of acquisition of the graft and are readily available, thus haploidentical transplants, similar to HLA matched related donor transplants, can be performed as soon as the donor is identified, usually within 3-4 weeks. These two characteristics, widespread and rapid availability, are allowing patients with more advanced diseases who achieve transient disease control to proceed faster to transplantation.<sup>6</sup>

Haploidentical transplantation with post-transplantation cyclophosphamide  
Haploidentical transplants have been performed ever since the beginning of transplantation. However, higher TRM initially because of acute GVHD and then due to infectious complications associated with extensive T-cell depletion<sup>6</sup> have proven to be significant limitations against extending the use of haploidentical donors for transplantation. Recent advances in this field have allowed performing allogeneic transplantation across major HLA barriers, increased significantly availability of donors for transplantation and the number of transplants

performed worldwide. The main development has been the use of post-transplantation cyclophosphamide (PTCy), which utilizes this alkylating agent in a novel fashion, making this transplant procedure feasible, low cost and reproducible worldwide.<sup>6</sup>

One of the earliest evidences of the effect of cyclophosphamide (Cy) on allograft alloreactive responses in mouse models was reported by Barenbum and Brown in the early 1960's.<sup>7</sup> Mice were injected with intraperitoneal Cy either before or after the administration of a major histocompatibility complex (MHC) mismatched skin graft. When compared to controls, the mice treated with Cy exhibited delayed graft rejection, with a maximum benefit when administered 4 days after the skin graft, suggesting that the effect was the result of a global as well as time dependent immune suppression.<sup>7</sup> This concept was translated to hematopoietic stem transplantation by Santos and Owens. This group found that mice treated with Cy administered a few days post cell infusion had lower incidence of GVHD and reduced mortality, and felt that "this is well suited for the investigation of therapy directed toward modifying graft-versus-host disease". Luznik and colleagues subsequently demonstrated in mouse models that MHC-mismatched bone marrow cells can stably engraft when Cy was used on day+3 after transplant and proved that long-term mixed hematopoietic chimerism, clonal deletion of donor-reactive T cells and bidirectional cytotoxic T-cell tolerance can be achieved, resulting in decrease in graft-versus-host (GVH) reactions.<sup>7</sup>

The mechanisms of cyclophosphamide-induced tolerance rely primarily on selective elimination of proliferating allo-antigen stimulated T cells, of both donor and host ori-

gin.<sup>7</sup> These T cells have replicative DNA and are exquisitely sensitive to Cy. This approach proved very effective in haploidentical transplants, where there is a significant proliferation of allo-reactive T cells in the early post-transplant period due to major HLA mismatch. Further studies have observed that after Cy administration, the donor memory T cells are relatively spared, which can provide donor-derived immunity protection and contribute to immune reconstitution post-transplant.<sup>7</sup> Clear evidence in this regard was provided by our group which showed that patients treated with a T cell replete graft and PTCy had a significant lower incidence of infectious complications and better immunologic reconstitution when compared with T cell depleted haploidentical transplants performed with CD34+ selection, using the same conditioning regimen.<sup>8</sup> Other mechanisms involved in the development of tolerance include clonal deletion, anergy and Treg mediated suppression, and deletion of anti-host T cell derived from donor hematopoietic stem cells in the thymus which contribute to establishing immediate and long term tolerance of donor cells after allografting.<sup>7</sup>

Since then, there has been a considerable interest in developing this approach for clinical practice. In 2011, Bone Marrow Transplant Clinical Trials Network (BMT-CTN) jointly published results of 2 parallel phase II studies of haploidentical and cord blood transplants. Both studies were conducted in patients with high-risk hematological malignancies. BMT-CTN 0603 reported the results of haploidentical transplants with PTCy and a bone marrow (BM) graft. All patients were treated with NMA conditioning using the Flu/Cy/TBI regimen.<sup>9</sup> Patients undergoing haploidentical transplant additionally received

PTCy along with MMF as described above. Haploidentical transplant patients had lower incidence of grade 2-4 aGVHD (32%) and, remarkably, there were no cases of severe (grade 3-4) aGVHD. The 1-year TRM was also remarkably low in the haploidentical transplants (7%), while the relapse rate appeared higher (45%).<sup>9</sup>

#### **Alternative conditioning regimens for haploidentical transplantation with PTCy**

After the initial success with NMA conditioning using the Flu/Cy/TBI regimen, several myeloablative conditioning regimens have been developed by different groups with very good results.<sup>7</sup> Overall, patients with lymphoid malignancies appeared to have excellent outcomes with RIC/NMA conditioning, while patients with myeloid malignancies acute leukemia appeared to require more intense conditioning due to a higher relapse rate.

Several groups explored more intense conditioning regimens including the Italian group lead by Bacigalupo using a protocol consisting of thiotepa 10mg/kg, busulfan 9mg/kg and fludarabine 150mg/m<sup>2</sup>.<sup>10</sup> Nearly two thirds of the patients had high-risk myeloid malignancies [AML, chronic myeloid leukemia (CML), or myeloproliferative disorder. The patients received a T-cell replete haploidentical bone marrow transplant followed by PTCy on Days +3 and +5, cyclosporine and MMF for GVHD prophylaxis. The cumulative incidence of grade 3-4 aGVHD was 12% with moderate cGVHD occurring in 10%. The cumulative incidence of NRM was 18%, relapse occurred in 22% of patients while 72% of the patients with AML were alive and in remission after a median of 18 months follow-up [10]. The MD Anderson group reported results for advanced myeloid malignancies treated with a uniform conditioning regimen

of thiotepa 5mg/kg, melphalan 140mg/m<sup>2</sup> (dose-reduced to 100 mg/m<sup>2</sup> in patients older than 55 years) and fludarabine 160 mg/m<sup>2</sup>.<sup>8</sup> Of the first 100 patients treated on this protocol, 66 had myeloid malignancies [AML, myelodysplastic syndrome (MDS), CML] and 26% of the patients were not in CR at time of the transplant. The 3-year PFS, 1 year TRM and cumulative incidence of relapse were 56.5%, 11.8%, and 30.1%, respectively. The incidence of grade 2-4 aGVHD was only 25%. Patients who underwent transplantation in morphologic CR or had low-risk cytogenetics had a statistically significant improvement in PFS compared to other groups and patients with intermediate or low-risk cytogenetics had a 3-year PFS of 70%. The Atlanta group recently published their results with a myeloablative conditioning regimen consisting of 1,200 cGy TBI and fludarabine 25mg/m<sup>2</sup> × 3 days for 30 patients adult patients up to age of 60 years (median 46.5 years) of which 28 with acute leukemia or myeloid malignancies [28]. All patients received a PB graft. All patients engrafted. The cumulative incidence of grade 2-4 and 3-4 aGVHD were 43% and 23% and cGVHD 56% (severe 10%). After a median follow-up of 2 years the estimated 2 year DFS was 73%, NRM 3% and relapse rate 24%.<sup>11</sup> Lymphoid malignancies have been treated predominantly with a RIC/NMA conditioning regimen. The initial regimen used was Flu/Cy/TBI which gained favor as it was found to have low toxicity and TRM, and encouraging survival rates. One of the first reports of its efficacy in haploidentical transplantation for lymphoma was published by Burroughs LM, et al.<sup>12</sup> This group analyzed 90 patients with relapsed/refractory, heavily pre-treated Hodgkin's disease (HD) who received either a MRD (n=38), MUD



(n=24), or haploidentical donor (n=28). In multivariate analysis, there was no significant difference in OS between the three groups at two years. There were no significant differences noted in grades 3-4 aGVHD or cGVHD between the groups. Patients undergoing a haploidentical transplants tended to have a lower TRM, lower relapse and improved survival when compared with the other 2 groups of matched transplants.<sup>12</sup> These initial results were subsequently confirmed at other centers. A retrospective review of 151 lymphoma patients undergoing a haploidentical transplant presented at the 2013 ASH meeting, 75% had non-Hodgkin's lymphoma (NHL) and 25% had HD.<sup>13</sup> The rate of severe acute GVHD was again low (5%) and the 1-year TRM and relapse rate were 16 % and 31%, respectively. The 3-year probabilities of PFS and OS were 40% and 46%. The disease-specific OS was 67% for HD, 38% for aggressive NHL, 28% for mantle cell lymphoma, and 48% for indolent NHL and chronic lymphocytic leukemia (CLL).<sup>13</sup> Our group explored a RIC melphalan-based conditioning for lymphoma patients and recently reported data on the first 19 patients with HD, NHL, and CLL treated with a regimen consisting of fludarabine 30 mg/m<sup>2</sup> x 4 days, melphalan 100 mg/m<sup>2</sup> in combination with thiotepa 5 mg/kg or 2GyTBI.<sup>14</sup> GVHD prophylaxis consisted of PTCy, tacrolimus, and MMF (continued until day +100). Seventeen of these patients had either relapsed or refractory NHL/HL or CLL, two thirds were not in remission at the time of transplant. The 2-year OS and PFS in this group was 63% and 52%, respectively, with a 2-year TRM of 11%, and relapse rate of only 25%. Patients with lymphoid malignancies who received lower doses of melphalan

(100 mg/m<sup>2</sup>) had a better 2-year PFS of 70% compared with 31% in the more intense melphalan 140 mg/m<sup>2</sup> group.<sup>14</sup>

#### **Haploidentical transplantation with a peripheral blood graft**

Haploidentical transplants with PTCy have been performed primarily with a BM graft. However, more recently several groups have explored the use of peripheral blood (PB) graft for haploidentical transplants.<sup>15</sup> In a multicenter trial led by Fred Hutchinson Cancer Research Center, 55 patients with a median age 49 years were treated with the Flu/Cy/TBI regimen. The patients had either myeloid (44%) or lymphoid (49%) malignancies, all were in remission at the time of transplant. The median numbers of CD34+ and T cells infused were 6.4x10<sup>6</sup>/kg and 2x10<sup>8</sup>CD3+ cells/kg, respectively. Engraftment was successful in 96% of patients, with a median time to neutrophil and platelet engraftment of 17 and 21 days, respectively. In this study, grade 2-3 aGVHD occurred in 60% of the patients (52% grade 2 and 8% grade 3 aGVHD), while cGVHD at 2 years was 18% (all extensive cGVHD). The 2-year TRM was 23%, relapse rate 28%, and PFS was 48%.<sup>15</sup> This study showed feasibility of PB in this setting and, while it appeared that there was a higher incidence of acute and chronic GVHD with PB compared with BM stem cells, aGVHD was easy treatable and the incidence of TRM was comparable with retrospective data from patients treated with the same conditioning regimen and BM graft. Experience with PB has now extended to other transplant centers. It is important to mention that different groups are limiting the number of CD34+ cells to 4-5 million to limit the number of T cells infused with the graft. High fevers are commonly noted in the first 5 days post PB stem cell infusion and

usually resolve after administration of Cy. However, occasionally cytokine release syndrome (CRS) has been described which was easily treated with tocilizumab.

#### **Comparative outcomes with HLA-matched unrelated donor transplants**

As outcomes of haploidentical transplants have improved, 5 retrospective single institution studies and 2 CIBMTR studies to date reported comparable outcomes with matched unrelated donor transplants. A summary of the 5 single institution studies comparing haploidentical vs MUDs done in patients with various hematological malignancies predominantly with a bone marrow graft and reduced intensity conditioning showed a median incidence of grade 2-4 aGVHD of 27.5% (range 14%-43%) vs 36.6% (range 22-63%), cGVHD 24% (range 13%-38%) vs 36.4% (22%-63%), respectively. The TRM ranged from 9% at 2 years to 18% at 1 year for haplos vs from 8% to 34% at 2 years for MUDs, relapse rate ranged from 18% at 1 year to 40% at 2 years for haplos and from 16% at 1 year to 52% at 2 years for MUDs, while PFS ranged from 41% at 3 years to 60% at 4 years for haplos and from 29% at 2 years to 52% at 2 years for MUDs (Table 1). It is important to note that none of these studies showed better DFS in favor of the MUD group while 3 showed significantly better DFS in favor of the haploidentical groups. In addition, two larger retrospective CIBMTR studies, one in AML patients<sup>16</sup> and one in patients with lymphoma,<sup>17</sup> also showed similar results between the two groups. In the first study on more than 2,000 patients (192 has a haploidentical donor) the 3-year PFS was similar for haplo and MUD patients treated with a MAC (41% vs 42%) and RIC/NMA conditioning (35% vs. 37%) while lower incidences



**Table 1.** Single institution studies comparing outcomes of haploidentical (bold) with MUD transplants

Diseases	Conditioning	SC source	Gr 2-4 aGVHD	cGVHD	TRM	RR	PFS	Ref.
HD	100% NMA	N/A	<b>43%</b> vs 50%	<b>35%</b> vs 63%	<b>9%</b> vs 8%	<b>40%</b> vs 63% at 2 yrs	<b>51%</b> vs 29% at 2 yrs	Borroughs, BBMT 2008
Hematol malign.	66% vs 54% RIC/NMA	60% vs 6% BM	<b>30%</b> vs 39%	<b>38%</b> vs 54%	<b>7%</b> vs 16% at 2 yrs	<b>33%</b> vs 34% at 2 yrs	<b>60%</b> vs 52% at 2 yrs	Bashey, JCO 2013
Hematol malign.	77% vs 72% MAC	100% vs 60% BM	<b>14%</b> vs 21%	<b>15%</b> vs 22%	<b>17%</b> vs 26% at 4 yrs	<b>18%</b> vs 20% at 4 yrs	<b>60%</b> vs 35% at 4 yrs	Raiola, BBMT 2014
AML/MDS	100% MAC/ RIC	97% vs 46% BM	<b>29%</b> vs 29%	<b>19%</b> vs 42%	<b>18%</b> vs 8% at 1 yr	<b>18%</b> vs 16% at 1 yr	<b>41%</b> vs 45% at 3 yrs	Di Stasi, BBMT 2014
Hematol malign.	100% RIC	87% vs 95% PB	<b>23%</b> vs 44%	<b>13%</b> vs 24%	<b>10%</b> vs 34% at 2 yrs	<b>23%</b> vs 31% at 2 yrs	<b>67%</b> vs 38% at 2 yrs	Blaise, BBMT 2016

HD: Hodgkin's disease; AML: acute myeloid leukemia; MDS: myelodysplastic syndromes; NMA: non-myeloablative conditioning; RIC: reduced-intensity conditioning; MAC: myeloablative conditioning; BM: bone marrow; PB: peripheral blood; SC: stem cell; aGVHD: acute graft-versus-host disease; cGVHD: chronic graft-versus-host disease; TRM: treatment-related mortality; RR: relapse rate; PFS: progression-free survival; Ref: reference; N/A: not available; BBMT: Biol Blood and Marrow Transplant; JCO: Journal of Clinical Oncology.

of acute and chronic GVHD were observed.<sup>16</sup> In the second study out of 917 lymphoma patients, 185 had a haploidentical donor (all treated with Flu/Cy/TBI regimen) similar results were observed: the 3-year PFS for haploidentical transplants was 47% vs 49% for MUDs without ATG, and 38% for MUDs with ATG (p=0.02), while the haploidentical transplants had again significantly lower incidence of severe aGVHD (8% vs 12% vs 17%, p<0.01) and mostly cGVHD (13% vs 51% vs 33%, p<0.001).<sup>17</sup> However, the great majority of haploidentical transplants were performed with BM (93%) and MUD transplants with a PB graft (93% and 94% for MUDs with and without ATG). These results showed excellent outcomes using haploidentical transplants performed with this novel GVHD prophylaxis using PTCy, tacrolimus and MMF, and multiple studies have now demonstrated similar outcomes with matched unrelated donor transplants. Future directions will explore decrease relapse rate, which remains a major cause of treatment failure not only in haploidentical but also in any

other forms of hematopoietic stem cell transplantation.

**REFERENCES**

1. Gratwohl A, Pasquini CM, Aljurf M, Atsuta Y, et al. One million haematopoietic stem-cell transplants: a retrospective observational study. *Lancet Haematol* 2015;2:91-100.
2. Riddell SR, Berger C, Murata M, Randolph S, Warren EH. The graft versus leukemia response after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood Rev* 2003;17:153-162.
3. Gooley TA, Chien JW, Pergam SA, et al. Reduced mortality after allogeneic hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med* 2010;363:2091-2101.
4. Yao S, Hahn T, Zhang Y, Haven D, et al. Unrelated donor allogeneic hematopoietic cell transplantation is underused as a curative therapy in eligible patients from the United States. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013;19:1459-1464.
5. Gragert L, Eapen M, Williams E, Freeman J, et al. HLA match likelihoods for hematopoietic stem-cell grafts in the U.S. registry. *N Engl J Med* 2014;371:339-348.
6. Ciurea SO, Bayraktar UD. "No donor"? Consider a haploidentical transplant. *Blood Rev* 2015;29:63-70.
7. Shabbir-Moosajee M, Lombardi L, Ciurea SO. An overview of conditioning regimens for haploidentical stem cell transplantation with post-transplantation cyclophosphamide. *Am J Hematol* 2015;90:541-548.
8. Ciurea SO, Mulanovich V, Saliba RM, Bayraktar UD, et al. Improved early outcomes using a T cell replete graft compared with T cell depleted haploidentical hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012;18:1835-1844.
9. Brunstein CG, et al. Alternative donor transplantation after reduced intensity conditioning: results of parallel phase 2 trials using partially HLA-mismatched related bone marrow or unrelated double umbilical cord blood grafts. *Blood* 2011;118:282-288.
10. Raiola AM, et al. Unmanipulated haploidentical bone marrow transplantation and posttransplantation cyclophosphamide for hematologic malignancies after myeloablative conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013;19:117-122.
11. Solomon SR, Sizemore CA, Sanacore M, et al. Haploidentical transplantation using T cell replete peripheral blood stem cells and myeloablative conditioning in patients with high-risk hematologic malignancies who lack conventional donors is well

- tolerated and produces excellent relapse-free survival: results of a prospective phase II trial. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012;18:1859-1866.
12. Burroughs LM, O'Donnell PV, Sandmaier BM, Storer BE, et al. Comparison of outcomes of HLA-matched related, unrelated, or HLA-haploidentical related hematopoietic cell transplantation following nonmyeloablative conditioning for relapsed or refractory Hodgkin lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008;14:1279-1287.
  13. Kasamon YL, Bolaños-Meade J, Gladstone D, et al. Outcomes of nonmyeloablative (NMA) haploidentical blood or marrow transplantation (haploBMT) with high-dose post-transplantation cyclophosphamide (PT/Cy) for lymphoma. New Orleans: American Society of Hematology, 2013.
  14. Brammer JE, Khouri I, Gaballa S, et al. Outcomes of haploidentical stem cell transplantation for lymphomas with melphalan-based conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015;22:493-498.
  15. Raj K, Pagliuca A, Bradstock K, et al. Peripheral blood hematopoietic stem cells for transplantation of hematological diseases from related, haploidentical donors after reduced-intensity conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014;20:890-895.
  16. Ciurea SO, Zhang MJ, Bacigalupo AA, et al. Haploidentical transplant with posttransplant cyclophosphamide vs matched unrelated donor transplant for acute myeloid leukemia. *Blood* 2015;126:1033-1040.
  17. Kanate AS, Mussetti A, Kharfan-Dabaja MA, et al. Reduced-intensity transplantation for lymphomas using haploidentical related donors versus HLA-matched unrelated donors. *Blood* 2015;127:938-947.

#### Autotrasplante en enfermedades autoinmunitarias

Guillermo J Ruiz-Argüelles, Guillermo J Ruiz-Delgado

Centro de Hematología y Medicina Interna de Puebla. Clínica Ruiz

En los últimos 10 años, a partir de 2006, se han realizado más de un millón de trasplantes de células hematopoyéticas (TCH) en todo el mundo, cuya indicación principal son las enfermedades hematológicas malignas.<sup>1</sup> Desde hace más de 20 años se han hecho trasplantes de células hematopoyéticas en el tratamiento de padecimientos autoinmunitarios y se calcula que más de 1,100 pacientes con padecimientos autoinmunitarios se han sometido a tratamientos con dosis altas de quimioterapia, seguidas de rescate con trasplante de células hematopoyéticas autólogas en 75 países del mundo.<sup>1</sup> El objetivo de este procedimiento terapéutico es abatir el sistema inmunitario de los pacientes para que, al recuperarse, lo haga de manera "reprogramada", minimizando así el ataque de las células de la respuesta inmunitaria a las estructuras afectadas por la enfermedad inmunológica.<sup>2,3</sup> Los dos padecimientos autoinmunitarios en los que hay más experiencia con trasplantes de células hematopoyéticas autólogas son la esclerosis múltiple y la esclerosis generalizada progresiva. También se han hecho trasplantes autólogos en pacientes con lupus eritematoso generalizado, artritis reumatoide y otros.<sup>3</sup> En el caso específico de la esclerosis múltiple, la experiencia con más de 600 pacientes tratados con quimioterapia a dosis altas seguida de trasplante de células hematopoyéticas ha permitido llegar a las siguientes conclusiones:<sup>2</sup> 1) el auto-trasplante de células hematopoyéticas se asocia con situaciones diferentes a las observadas en autotrasplantes por otras enfermedades; por ejemplo, la administración de filgrastim puede empeorar el curso de la esclerosis múltiple si no se administran simultáneamente esteroides; 2) la morbilidad y mortalidad actuales

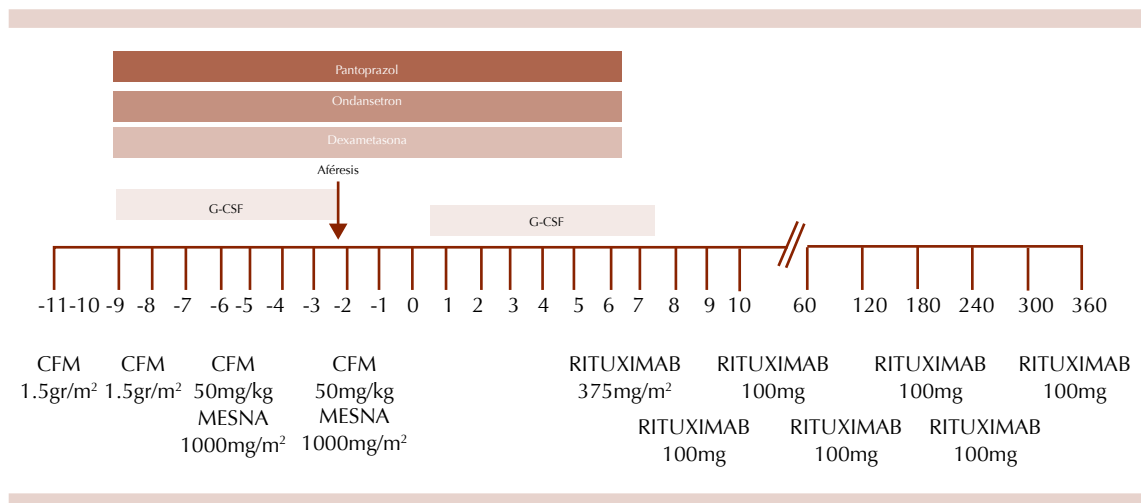
de los autotrasplantes de células hematopoyéticas en esclerosis múltiple son menores a 5%; 3) las dosis demasiado altas de quimioterapia pueden exacerbar el daño neurológico. 4) Los autotrasplantes de células hematopoyéticas mejoran más a los pacientes con formas muy inflamatorias de esclerosis múltiple. 5) La intensidad de la quimioterapia se asocia con resultados variables, en general, mientras más alta se obtienen mejores resultados, sin sobrepasar ciertas dosis. 6) Los autotrasplantes de células hematopoyéticas en esclerosis múltiple estabilizan la enfermedad en alrededor de 50% de los casos. 7) Los autotrasplantes de células hematopoyéticas mejoran el índice de discapacidad (EDSS, *expanded disability status scale*) en 25% de los casos. 8) Los autotrasplantes de células hematopoyéticas permiten que otros agentes inmunosupresores funcionen mejor. 9) A pesar de la ablación inmunológica, los pacientes con esclerosis múltiple sometidos a autotrasplantes de células hematopoyéticas conservan la tendencia a la autoinmunidad e incluso en 10% de ellos aparecen otras enfermedades autoinmunitarias. 10) Existen datos que permiten concluir que el autotrasplante de células hematopoyéticas en esclerosis múltiple puede ser menos costoso que los tratamientos inmunosupresores novedosos que se prescriben en el tratamiento de la enfermedad.

Las ideas acerca de la conveniencia de efectuar autotrasplante de células hematopoyéticas en esclerosis múltiple varían entre el escepticismo total acerca de los beneficios del procedimiento y la acusación de negligencia hacia los neurólogos, quienes no ofrecen este tratamiento como parte de los recursos terapéuticos modernos y eficaces de la enfermedad.<sup>2,4</sup> Tal vez por eso es

que hay relativamente pocos centros en el mundo donde se efectúan programas de trasplante en pacientes con esclerosis múltiple.<sup>4-6</sup> En el sitio <http://www.hsctstopsms.com/hsct-facilities-worldwide/> se describen centros de autotrasplantes de células hematopoyéticas para pacientes con esclerosis múltiple en 14 países: Alemania, Brasil, Canadá, Dinamarca, Estados Unidos, Filipinas, Israel, Italia, México, Polonia, Rusia, Sudáfrica, Singapur y Suecia. Apoyados en nuestra experiencia de más de 20 años en autotrasplante de células hematopoyéticas en enfermedades hematológicas<sup>7</sup> y en las premisas señaladas en relación con la utilidad de estos tratamientos en esclerosis múltiple, desarrollamos un método para hacer autotrasplante de células hematopoyéticas en pacientes con esclerosis múltiple, el “Método mexicano para hacer autotrasplante de células hematopoyéticas en esclerosis múltiple”: los pacientes con esta enfermedad y puntaje en la escala expandida de discapacidad (EDSS) con valor de siete o menos se trasplantaron de manera prospectiva usando células hemato-

poyéticas de la sangre periférica no congeladas ni manipuladas. Todo el procedimiento se planeó para realizarse de manera extrahospitalaria; la movilización de las células madre hematopoyéticas se hizo con dosis altas de ciclofosfamida y filgrastim y el acondicionamiento pretrasplante se hizo con dosis altas de ciclofosfamida y MESNA. Se administraron antibióticos, antivirales y antimicóticos por vía oral de manera profiláctica. Se realizaron las sesiones de aféresis para obtener un mínimo de  $1 \times 10^6/\text{kg}$  de células CD34 viables. Se administró rituximab postrasplante como mantenimiento. La Figura 1 resume el esquema de movilización y de acondicionamiento usado. Con este método hemos trasplantado 30 pacientes (18 mujeres y 12 hombres) con edades entre 30 y 65 años (mediana 48). El puntaje en la escala expandida de discapacidad de los pacientes tuvo una mediana de cinco puntos, con límites de uno a siete. Para obtener un mínimo de  $1 \times 10^6/\text{kg}$  de células CD34 se realizaron entre una y tres sesiones de aféresis (mediana 1). El número

total de células CD34 viables infundidas a los pacientes varió entre  $1$  y  $9.6 \times 10^6/\text{kg}$  (mediana 2.13). Dos pacientes (6.6%) debieron admitirse al hospital por fiebre neutropénica en un caso y por vómito con deshidratación en otro. Los pacientes recuperaron granulocitos por encima de  $0.5 \times 10^9/\text{L}$  en una mediana de 9 días postrasplante (límites: 6 y 12 días). Ningún paciente requirió transfusión de glóbulos rojos ni de plaquetas. No hubo muertes relacionadas con el trasplante y la supervivencia a 30 meses fue de 100%. En cinco pacientes se hizo la evaluación del puntaje en la escala expandida de discapacidad a los tres meses postrasplante y en ellas disminuyó de una mediana de 4.5 a una mediana de 2. Con esta experiencia concluimos que es posible y seguro hacer trasplante de células hematopoyéticas autólogas sin congelar en pacientes con esclerosis múltiple de manera extrahospitalaria. Se requieren estudios para analizar la utilidad de estos tratamientos de reprogramación del sistema inmunitario en esclerosis múltiple.



**Figura 1.** Esquema del “Método mexicano para hacer autotrasplante de células hematopoyéticas en esclerosis múltiple”. CFM: ciclofosfamida; MESNA: mercaptoetanol sulfonato de sodio; G-CSF: filgrastim.

Esta variante de autotrasplante de células hematopoyéticas en pacientes con esclerosis múltiple, el “*Método mexicano para hacer auto-TCH en esclerosis múltiple*”, debe agregarse a las otras variantes mexicanas para realizar trasplantes autólogos, alogénicos, de células placentarias y de células hematopoyéticas haploidenticas,<sup>8</sup> cuyo objetivo principal es hacer accesible este tipo de tratamientos a un mayor número de habitantes de países en condiciones económicas limitadas, en los que habitan más de 80% de los pobladores del mundo.<sup>9</sup>

## REFERENCIAS

1. Gratwohl A, Pasquini MC, Aljurf M, Atsuta Y, et al, for the Worldwide Network for Blood and Marrow Transplantation (WBMT). One million hematopoietic stem cell transplants: A retrospective observational study. *Lancet Haematol* 2015;1:11-20.
2. Atkins HL, Freedman MS.: Hematopoietic stem cell therapy for multiple sclerosis: Top 10 lessons learned. *Neurotherapeutics* 2013;10:68-76.
3. Oliveira-Rodriguez MA, Hamersschlak N, Aparecida-de-Moraes D, Pinto-Simoes B, Rodrigues M, Feitosa-Ribeiro AA, Voltarelli JC (in memoriam). Guidelines of the Brazilian Society of Bone Marrow Transplantation on hematopoietic stem cell multiple sclerosis. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2013;35:134-143.
4. Rogne S. Unethical for neurologists not to offer patients with multiple sclerosis chemotherapy with autologous stem cell support. *Tidsskr Nor Laegeforen* 2014;134:1931-1932.
5. Stellmann JP, Stürner KH, Ufer F, Havemeister S, et al. Stem cell transplantation for multiple sclerosis; Hamburg experiences and state of international research. *Nervenarzt* 2015;86:989-96.
6. Shevchenko JL, Kuznetsov AN, Lonova TI, Melnichenko VY, et al. Long-term outcomes of autologous hematopoietic stem cell transplantation

with reduced-intensity conditioning in multiple sclerosis: Physician's and patient's perspectives. *Ann Hematol* 2015;94:1149-1157.

7. Ruiz-Delgado GJ, Ruiz-Argüelles GJ. A Mexican way to cope with stem cell transplantation. *Hematology* 2012;17(Suppl 1):195-197.
8. Ruiz-Argüelles GJ, Ruiz-Delgado GJ, González-Llano O, Gómez-Almaguer D. Haploidentical bone marrow transplantation in 2015 and beyond. *Curr Oncol Rep* 2015;17:57. doi: 10.1007/s11912-015-0482-9.
9. Ruiz-Argüelles GJ. Stem cell transplantation procedures are becoming affordable for individuals living in developing (middle income) countries. *Acta Haematol* 2015;135:79-80.

### Advances in the genetic basis of myelodysplastic syndromes: their impact in prognosis and therapy response

Rafael Bejar

Division of Hematology and Oncology, University of California, San Diego, Moores Cancer Center, La Jolla, CA, USA

#### Abstract

Sequencing of tumor DNA has become routine for several malignancies, but is not yet incorporated in to the standard management of patients with MDS. Yet somatic mutations are common in MDS and represent the pathogenic molecular mechanisms responsible for disease development and progression. There is ample evidence demonstrating that certain mutated genes carry prognostic significance that is independent of commonly used risk stratification tools like the Revised International Prognostic Scoring System. Some mutations can help identify patients with higher than predicted disease risk, while the absence of *TP53* mutations in patients with complex karyotypes may signify lower risk than predicted. Genetic abnormalities can be predictive as in the case of the del(5q) chromoso-

mal abnormality in lower risk MDS and subsequent response to lenalidomide. Somatic mutations may also be associated with response to treatment with hypomethylating agents as well as outcomes after stem cell transplantation. The barriers to clinical sequencing are falling as tests become increasingly available to physicians. However, interpreting these results remains challenging and consensus on how best to incorporate molecular genetic information into clinical care is still needed.

#### Introduction

The clinical approach to patients with cancer is increasingly reliant on genetic features that were either not known about or not accessible in practice just a few years ago. Chromosomal abnormalities and mutations of individual genes have become clinically relevant biomarkers with diagnostic value, prognostic significance, and an ability to predict responses and outcomes after specific treatments. The set of relevant abnormalities differs by cancer type, but examples highlighting the importance of clinical genetics can be found in almost every instance. This holds true for hematologic malignancies, several of which were redefined once the underlying genetic lesions responsible for their pathogenesis were identified.<sup>1</sup> For more clinically and genetically heterogeneous disorders, establishing the utility of genetic analyses has been more challenging. This article will focus on the genetic basis of myelodysplastic syndromes (MDS), discussing in detail how genetic abnormalities can help predict prognosis and therapeutic responses in patients.

#### Current standard practices

Clinically, MDS are hematologic neoplasms characterized by cytopenias of the peripheral blood and a propensity to progress to acute mye-

loid leukemia (AML). In addition to cytopenias, a diagnosis of MDS requires that patients have a bone marrow containing morphologic dysplasia in more than 10% of cells of at least one lineage or greater than 5% blasts.<sup>1</sup> Rare cytopenic patients that lack these bone marrow findings can be diagnosed with MDS if they carry a clonal chromosomal abnormality typical for MDS. Once a diagnosis of MDS is established, patients are classified into one several disease subtypes based largely on morphologic features like the abundance of blasts, degree of dysplasia, and the presence of ring sideroblasts. Only one subtype of MDS is defined genetically, namely, MDS with isolated del(5q).

Before treatment decisions are made, MDS patients must be risk stratified.<sup>2</sup> Patients considered to have higher risk disease with shorter overall survival and greater propensity to transform to AML will be treated much more aggressively than lower risk patients predicted to have a more indolent course. The mainstay of risk stratification for MDS has been the International Prognostic Scoring System (IPSS) first published in 1997.<sup>3</sup> It considers three disease features beginning with several of the most common chromosomal abnormalities. Patients are also scored on the abundance of bone marrow blasts and the number of cytopenias present in their peripheral blood. The total score is used to assign patients one of four risk groups: Low, Intermediate-1, Intermediate-2, or High. The first two identify patients considered to have lower risk MDS while patients in the latter two groups have higher risk disease. In 2012, the IPSS was revised (IPSS-R) to better risk stratify MDS patients.<sup>4</sup> The IPSS-R considers a greater number of chromosomal abnormalities giving them added prognostic significance.<sup>5</sup> It refines the risk associated with

bone marrow blast percentages and weighs the severity of cytopenias in each cell line, not merely their presence or absence. Finally, patients are assigned to one of 5 risk groups, Very Low, Low, Intermediate, High, and Very High based on their total score which can be adjusted for age. Lower risk patients can be simply observed over time, or treated with supportive therapies such as erythropoiesis stimulating agents.<sup>6</sup> A select few with appropriate features may receive immune suppressive therapy. Patients with lower risk del(5q) MDS will often receive lenalidomide as this group of patients has a very high frequency of deep and long lasting responses. Higher risk MDS patients are offered hematopoietic stem cell transplantation (HCST) if they are good candidates and have a donor option. For most patients, however, HCST is not an option. Instead, the majority of higher risk MDS patients will instead be treated with one of two approved hypomethylating agents, azacitidine or decitabine. Less than half will respond to one of these agents for which there is no reliable predictive biomarker.

#### Genetic landscape of MDS

In the current standard practices described above, there is no mention of somatic mutations of individual genes. Genetics play just a minor role in the routine care of MDS patients. Only chromosomal abnormalities, present in fewer than 50% of patients, help with risk stratification or classification and treatment selection as in the rarer cases of isolated del(5q). This paradigm has begun change with our greater understanding about the types of genetic abnormalities responsible for the pathogenesis of MDS and what their clinical significance might be.

Somatic mutations in the coding regions of over 50 genes have been identified in patients with MDS.<sup>7-9</sup>

No single gene is present in the majority of cases, but one or more recurrent mutations can be found in almost every patient. There is tremendous genetic diversity in both the combinations of mutated genes and in the clonal architecture observed in patients. No two patients will have the same genetic profile and these profiles will change over time as new clones emerge and compete with each other. This reality makes it difficult to identify the clinical consequences of a particular set of mutations. However, characterizing the genetic landscape of MDS has given us tremendous insights into the molecular mechanisms responsible for disease development and progression (Table 1).

For example, we have learned that myelodysplastic syndromes are largely diseases of the spliceosome.<sup>10</sup> Two-thirds of patients will have a mutation in a splicing factor gene such as *SF3B1*, *SRSF2*, or *U2AF1*.<sup>11,12</sup> These mutations are exclusive of each other, meaning that most disease cells will carry at most one abnormal splicing factor. This may indicate that a mutation of any splicing factor engages a common pathogenic mechanism. However, mutations in different splicing factors have been associated with very different clinical phenotypes.<sup>13,14</sup> The second most frequently mutated class of genes, present in roughly 50% of cases, encode epigenetic modifiers.<sup>10</sup> These include regulators of DNA methylation, like *TET2* and *DNMT3A*, as well as histone modifiers, like *EZH2* and *ASXL1*. Unlike the splicing factors, mutations of these genes often co-occur. Other types of genes mutated in MDS include transcription factors, like *RUNX1*, *ETV6*, and *GATA2*; the cohesins, typified by mutations of *STAG2*, *SMC3*, or *RAD21*; members of the tyrosine kinase signaling cascade, such as *NRAS*, *CBL*, and *JAK2*; and



**Table 1.** Recurrently mutated genes in MDS and their reported associations with prognosis and response to therapy

Mutated gene	Frequency in MDS	Prognostic association	Reported predictive associations
<b>Splicing</b>			
<i>SF3B1</i>	20-30%	Favorable	
<i>SRSF2</i>	10-15%	Adverse	
<i>U2AF1</i>	8-12%	Adverse	
<i>ZRSR2</i>	5-10%		
<b>Epigenetic regulators</b>			
<i>TET2</i>	20-25%	Neutral	Improved response to HMA, inferior outcome after stem cell transplantation
<i>DNMT3A</i>	12-18%	Adverse	Improved response to HMA, inferior outcome after stem cell transplantation
<i>IDH1</i>	<5%		Improved response to HMA
<i>IDH2</i>	<5%	Adverse	Improved response to HMA
<i>ASXL1</i>	15-25%	Adverse	Relative resistance to HMA
<b>Transcription</b>			
<i>RUNX1</i>	10-15%	Adverse	
<i>ETV6</i>	<5%	Adverse	
<i>GATA2</i>	<2%		
<i>PHF6</i>	<2%		
<i>TP53</i>	8-12%	Very adverse	Very inferior outcome after stem cell transplantation
<b>Cohesins</b>			
<i>STAG2</i>	5-10%	Adverse	
<i>RAD21</i>	<5%		
<i>SMC1A</i>	<2%		
<b>Signaling</b>			
<i>NRAS</i>	5-10%	Adverse	
<i>JAK2</i>	<5%	Neutral	
<i>CBL</i>	<5%	Adverse	
<i>PTPN11</i>	<2%	Adverse	
<i>NF1</i>	<2%		

mutations of *TP53*, the “guardian of the genome,” present in about 10% of patients, most of whom have a complex karyotype.

Unfortunately, none of these gene mutations in isolation can be considered diagnostic of MDS. All of these mutated genes can be found in other clonal hematopoietic disorders, including lymphoid malignancies such as CLL and T-ALL for some mutations.<sup>15-17</sup> Therefore, they lack the specificity required

to serve as diagnostic biomarkers in the way that we would consider *BCR-ABL* fusions to be diagnostic of chronic myelogenous leukemia. More importantly, we have learned recently that mutated genes associated with MDS, including *DNMT3A*, *TET2*, and *ASXL1*, can be identified in persons with no hematologic abnormalities.<sup>18-20</sup> The prevalence of somatic mutations indicative of clonal hematopoiesis rises dramatically with age approaching 15% in

patients aged 75-85. This is many-fold higher than the prevalence of hematologic neoplasms in this population indicating that most people with incidentally identified somatic mutations will not go on to develop a clinically significant clonal blood disorder even if they might be at increased risk of doing so. For this reason, persons with somatic mutations in the absence of a hematologic disorder are said to have clonal hematopoiesis of indeterminate potential, abbreviated CHIP.<sup>21</sup> Cytopenic patients with CHIP are further subdivided and described as having clonal cytopenias of undetermined significance (CCUS) since by definition; they do not meet diagnostic criteria for MDS or another disorder.<sup>22,23</sup> We have yet to fully characterize the clinical implications of MDS-related somatic mutations in these groups. Despite these challenges and the tremendous genetic diversity underlying MDS, we have begun to understand how genetic mutations can inform clinical care.

#### Somatic mutations can refine prognosis in MDS

The strongest evidence for the routine use of genetic sequencing in the care of patients with MDS comes from studies examining the prognostic significance of disease-related mutations. Currently, chromosomal abnormalities are the only genetic features considered by prognostic scoring systems in wide clinical use.<sup>24,25</sup> The IPSS-R improves genetic risk stratification over the IPSS by explicitly including many additional chromosomal abnormalities and distributing them over a wider range of risk scores.<sup>4,26</sup> For example, patients with monosomy 7 were ascribed greater risk than those with del(7q) in the IPSS-R, whereas in the IPSS, both abnormalities were lumped together. The IPSS-R also split patients with complex karyotypes in

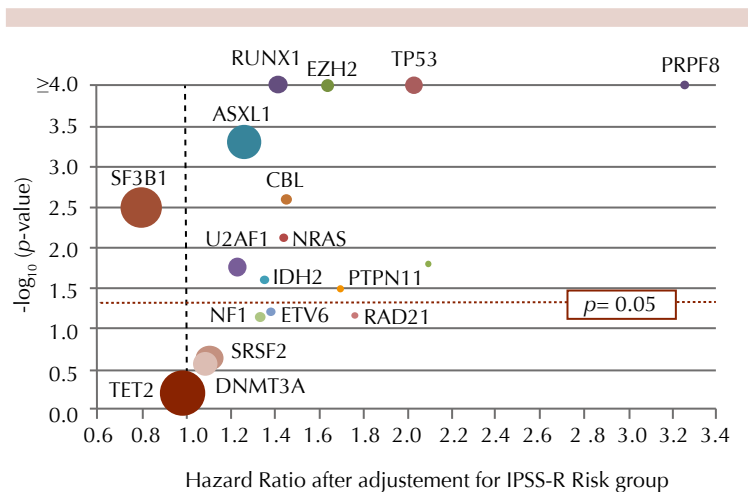
to two groups; those with exactly three chromosomal abnormalities and those with four or more for whom the highest cytogenetic risk group is reserved. Despite these improvements, two thirds of MDS patients have are assigned 'Good' cytogenetic risk since this group includes patients with a normal karyotype and some of the more common cytogenetic abnormalities like del(5q). Therefore, most MDS patients are not strongly risk stratified by genetic abnormalities in the IPSS-R.

Examination of chromosomal structure using tools with greater sensitivity and resolution than the standard karyotype can identify patients with 'normal' cytogenetics who harbor cryptic lesions of prognostic significance.<sup>27,28</sup> Fluorescence in situ hybridization (FISH) can examine an order of magnitude more cells and can be used on post-mitotic cells. Genome wide single nucleotide polymorphism arrays (SNPa) can detect small duplications and deletions as well as areas that have acquired uniparental disomy (aUPD, also known as copy number neutral loss of heterozygosity). Regions of aUPD are not found randomly.<sup>29</sup> They often include mutated genes, like *TET2*, *EZH2*, or *CBL*, which are the likely the reason aUPD is selected for when it occurs in these areas. While not frequent, cryptic abnormalities of chromosome 7, detected with either FISH or SNPa, have been shown to predict shorter overall survival.<sup>30</sup>

Somatic mutations are much more common than karyotype abnormalities and can therefore refine the prediction of prognosis in a greater proportion of patients. In 2011, our group demonstrated that mutations of *TP53*, *EZH2*, *RUNX1*, *ETV6*, or *ASXL1* were each independently associated with an inferior prognosis than predicted by the IPSS.<sup>7</sup> In particular, mutations of *EZH2* or *NRAS*

identified IPSS lower risk MDS patients with an overall survival more like that of patients with Intermediate-2 risk, a higher risk population.<sup>31,32</sup> Subsequent studies examining larger cohorts for mutations in more genes have demonstrated that these gene mutations remain prognostically important even after adjustment for IPSS-R risk groups.<sup>8,9</sup> They also find additional mutated genes with adverse prognostic significance including *CBL*, *PTPN11*, *PRPF8*, and *U2AF1*. Only mutations in one gene, the splicing factor *SF3B1*, were associated with a longer overall survival. An interim report from an ongoing meta-analysis by the International Working Group for MDS Molecular Prognostic committee (IWG-PM) found that mutations in 11 genes were associated with significantly shorter overall survival than predicted by the IPSS-R alone (Figure 1).<sup>33</sup> As genetic mutations are drivers

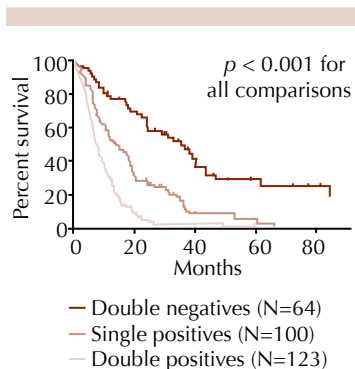
of disease phenotypes, they are often associated with known clinical risk factors such as increased blasts, complex karyotypes, and the severity of cytopenias. Therefore, prognostic models that only consider somatic mutations can risk stratify MDS patients fairly well.<sup>9</sup> Combining clinical information with mutations produces models that fare only slightly better. How best to combine these overlapping prognostic features is an open question. The IWG-PM is working to create an update to the IPSS-R that incorporates mutational information. Until then, a simple approach can be to risk stratify patients using the IPSS-R, then adjust that risk prediction by considering the presence of prognostic mutations. For example, an IPSS-R Intermediate risk group patient with a somatic mutation of *RUNX1* likely is at higher risk than predicted. This patient



**Figure 1.** Somatically mutated genes with prognostic value independent of the IPSS-R. Samples from over 2,500 MDS patients were sequenced for mutations in recurrently mutated genes. The hazard ratios of death associated with mutations in each gene were adjusted by IPSS-R risk group. The adjusted hazard ratio is shown on the x-axis. The negative logarithm of the p-value is shown on the y-axis. Points above the red line representing a p-value of 0.05 are considered to have a statistically significant association with overall survival. The size of each circle is proportional to the fraction of patients that carry a somatic mutation in the labeled gene. From data presented at the 2015 American Society of Hematology Annual Meeting.<sup>33</sup>

might be considered for stem cell transplantation evaluation or, if in need of therapy, treated according to the algorithm for higher risk patients.

In certain scenarios, somatic mutation testing can identify patient with less risk than predicted. Patients with *SF3B1* mutations, particularly when adverse mutations are absent, have longer overall survival than patients without mutations of *SF3B1*. This remains true in patients with RARS or RARS-T.<sup>33-35</sup> While more than three-quarter of these patients will have and *SF3B1* mutation, those without have a shorter overall survival and are more likely to have mutations in genes associated with an adverse prognosis (like *ASXL1* or other splicing factors *SRSF2* or *U2AF1*). Even patients with the highest predicted risk can have their prognosis refined by genetic testing. Several studies have suggested that MDS patients with a complex karyotype that can be described as 'monosomal' (i.e., missing an entire autosomal chromosome) have a worse prognosis.<sup>36-39</sup> Other studies suggest that the total number of abnormalities is of greater importance.<sup>40</sup> However, about 50% of MDS patients with complex karyotypes will carry a *TP53* mutation. In a meta-analysis of complex karyotype patients carried out by the IWG-PM, the presence of a *TP53* mutation was found to have adverse prognostic significance in this group as did the presence of 5 or more chromosomal abnormalities (Figure 2).<sup>41</sup> When these features were considered, the presence of a monosomal karyotype was no longer independently prognostic. The 43% of complex karyotype patients with both a *TP53* mutation and 5 or more abnormalities had a median overall survival of 7.6 months compared with 35.5 months for the 22% of patients without either of these adverse features. Complex karyotype patients with only one of these features had



**Figura 1.** *TP53* mutations and number of abnormalities risk stratify MDS patients with complex karyotypes. Patients with both a *TP53* mutation and 5 or more chromosomal abnormalities (Double Positives, red line) have a very short median overall survival of only 7.6 months. Complex karyotype patients without a *TP53* mutation and only 3 or 4 chromosomal abnormalities (Double Negatives, black line) are expected to live much longer, with a median overall survival of 35.5 months. Patients with either a *TP53* or 5 or more chromosomal abnormalities (Single Positive, blue line) alone have an intermediate overall survival with a median of 13.8 months. From data presented at the 2014 American Society of Hematology Annual Meeting.<sup>41</sup>

a median overall survival of 13.8 months.

#### Somatic mutations predict treatment response

Clearly, mutation information can refine prognosis at all levels of risk and can affect how clinicians decide to treat patients. However, the greatest clinical impact comes from genetic biomarkers that strongly predict responses to treatment. As mentioned earlier, patients with a del(5q) abnormality, either as a single lesion or one of a pair of lesions, have outstanding responses to lenalidomide.<sup>42</sup> Patients without del(5q) are much less likely to respond, have smaller improvements in blood counts, and relapse much

sooner. However, not all del(5q) MDS patients do well with lenalidomide. It has been shown that patients with del(5q) and a *TP53* mutation are likely to relapse earlier, often with enlargement of the *TP53* mutant clone.<sup>43,44</sup>

For higher risk patients, hypomethylating agents are the most commonly used treatment.<sup>6,45</sup> Unfortunately, on 50% of patients will respond and it can take 4-6 months before a response develops.<sup>46</sup> Pre-treatment biomarkers capable of predicting response to hypomethylating agents would be of great clinical benefit.<sup>47</sup> Several studies have attempted to find somatic mutations associated with response to hypomethylating agents.<sup>48</sup> Itzykson et al. examined a small cohort of MDS patients treated with azacitidine and found that those carrying *TET2* mutations were nearly twice as likely to respond.<sup>49</sup> In a subsequent study examining a larger cohort of patients treated primarily with decitabine, our group found that *TET2* mutations were predictive of response as long as that mutation was present in a large disease clone.<sup>50</sup> The group with the greatest response rate had high abundance *TET2* mutation and no mutation of *ASXL1*. Mutations in several other genes were not found to predict response in this cohort. A similar study in a smaller cohort of patients found that those with *TET2* and/or *DNMT3A* mutations had an increased rate of response to a hypomethylating agent.<sup>51</sup> Most recently, two studies presented in abstract format suggest that *TP53* mutant clones are particularly sensitive to decitabine.<sup>52,53</sup> However, relapses in *TP53* mutant patients are common and these patients continue to have shorter overall survival despite treatment.<sup>50,54,55</sup> In all of these examples, the associations between mutations and response were not absolute. Many patients

with response associated mutations did not benefit from treatment and many patients with mutations in other genes did respond. Therefore, these genetic biomarkers should not be used to exclude any MDS patient from receiving a hypomethylating agent, but may help refine expectations. Once additional therapeutic options are available for MDS, mutations in genes like *TET2* may help us how to decide among them.

Stem cell transplantation remains the only curative therapy for patients with MDS. As with hypomethylating agents, only a fraction of patients benefit from this often morbid procedure. Therefore, predictive biomarkers would be extremely valuable in this context as well. Several groups have studied associations between genetic features and transplant outcomes.<sup>56-59</sup> Our study focused on MDS patients that mostly received reduced intensity or non-myeloablative transplants.<sup>60</sup> Clinical factors like the presence of increased blasts or a complex karyotype are well known to be associated with inferior survival after transplantation.<sup>58,61</sup> We searched for genes that had similar associations with outcome. We found mutations in three genes that predicted survival after transplant. Patients with mutations of *DNMT3A* or *TET2* had a 30% probability of survival after five years. Even worse, no patient with a *TP53* mutation survived that long as the group had a median overall survival of about 6 months. In contrast, patients without mutations in any of these three genes had 60% probability of survival after five years. Patients with complex karyotypes could be split by their *TP53* mutation status. More than 90% of those with a *TP53* mutation survived less than one year whereas 50% of complex karyotype patients without a *TP53* mutation were alive after 5 years. Nearly all of the *TP53* mutant patients died after disease relapse. These findings have important

clinical implications. If validated, they suggest that *TP53* mutant patients may not be good transplant candidates and should instead receive experimental therapy. Other studies have shown mixed results, but none include enough patients to make definitive treatment recommendations.<sup>57-59</sup> Large-scale studies examining somatic mutations and transplant outcomes are ongoing.

### Conclusion

Discoveries about molecular abnormalities present in MDS have redefined these disorders as diseases of abnormal splicing and epigenetic regulation. Several other pathways are involved and can shape the manifestations of the disease and clinical outcomes. We are beginning to understand how these genetic abnormalities can combine to produce the broad range of clinical phenotypes seen in patients. Some of these genetic lesions can serve as prognostic and predictive biomarkers that will eventually be included in clinical care guidelines. Somatic mutations will eventually inform the molecular classification of MDS, grouping patients with more homogeneous clinical features, prognosis, and response to specific therapies. Most importantly, this knowledge will help find novel therapeutic targets for these disorders in great need of new treatments.

### REFERENCES

1. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009;114:937-951.
2. Greenberg PL, Attar E, Bennett JM, et al. Myelodysplastic syndromes: clinical practice guidelines in oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2013;11:838-874.
3. Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, et al. International scoring system for evaluating prognosis in

- myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997;89:2079-2088.
4. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, et al. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood* 2012;120:2454-2465.
5. Schanz J, Tüchler H, Solé F, et al. New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (MDS) and oligoblastic acute myeloid leukemia after MDS derived from an international database merge. *J Clin Oncol* 2012;30:820-829.
6. Greenberg PL, Stone RM, Bejar R, et al. Myelodysplastic syndromes, version 2.2015. *J Natl Compr Canc Netw* 2015;13:261-272.
7. Bejar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, et al. Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med* 2011;364:2496-2506.
8. Papaemmanuil E, Gerstung M, Malcovati L, et al. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes. *Blood* 2013;122:3616-3627.
9. Haferlach T, Nagata Y, Grossmann V, et al. Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 2014;28:241-247.
10. Bejar R, Steensma DP. Recent developments in myelodysplastic syndromes. *Blood* 2014;124:2793-2803.
11. Papaemmanuil E, Cazzola M, Boulwood J, et al. Somatic SF3B1 mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts. *N Engl J Med* 2011;365:1384-1395.
12. Yoshida K, Sanada M, Shiraishi Y, et al. Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia. *Nature* 2011;478:64-69.
13. Cazzola M, Rossi M, Malcovati L. Biologic and clinical significance of somatic mutations of SF3B1 in myeloid and lymphoid neoplasms. *Blood* 2013;121:260-269.
14. Damm F, Kosmider O, Gelsi-Boyer V, et al. Mutations affecting mRNA splicing define distinct clinical phenotypes and correlate with patient outcome in myelodysplastic syndromes. *Blood* 2012;119:3211-3218.
15. Quesada V, Conde L, Villamor N, et al. Exome sequencing identifies recurrent mutations of the splicing factor

- SF3B1 gene in chronic lymphocytic leukemia. *Nat Genet* 2011;44:47-52.
16. Baliakas P, Hadzidimitriou A, Sutton LA, et al. Recurrent mutations refine prognosis in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2014;29:196.
  17. Neumann M, Vosberg S, Schlee C, et al. Mutational spectrum of adult T-ALL. *Oncotarget* 2015;6:2754-2766.
  18. Genovese G, Kähler AK, Handsaker RE, et al. Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence. *N Engl J Med* 2014;371:2477-2487.
  19. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, et al. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *N Engl J Med* 2014;371:2488-2498.
  20. Xie M, Lu C, Wang J, et al. Age-related mutations associated with clonal hematopoietic expansion and malignancies. *Nat Med* 2014;20:1472-1478.
  21. Steensma DP, Bejar R, Jaiswal S, et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. *Blood* 2015;126:9-16.
  22. Kwok B, Hall JM, Witte JS, et al. MDS-associated somatic mutations and clonal hematopoiesis are common in idiopathic cytopenias of undetermined significance. *Blood* 2015;126:2355-2361.
  23. Cargo CA, Rowbotham N, Evans PA, et al. Targeted sequencing identifies patients with preclinical MDS at high risk of disease progression. *Blood* 2015;126:2362-2365.
  24. Bejar R. Prognostic models in myelodysplastic syndromes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2013;2013:504-510.
  25. Della Porta MG, Tuechler H, Malcovati L, et al. Validation of WHO classification-based Prognostic Scoring System (WPSS) for myelodysplastic syndromes and comparison with the revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R). A study of the International Working Group for Prognosis in Myelodysplasia (IWG-PM). *Leukemia* 2015;29:1502-1513.
  26. Schanz J, Steidl C, Fonatsch C, et al. Coalesced multicentric analysis of 2,351 patients with myelodysplastic syndromes indicates an underestimation of poor-risk cytogenetics of myelodysplastic syndromes in the international prognostic scoring system. *J Clin Oncol* 2011;29:1963-1970.
  27. Tiu RV, Gondek LP, O'Keefe CL, et al. Prognostic impact of SNP array karyotyping in myelodysplastic syndromes and related myeloid malignancies. *Blood* 2011;117:4552-4560.
  28. Gondek LP, Tiu R, O'Keefe CL, Sekeres MA, Theil KS, Maciejewski JP. Chromosomal lesions and uniparental disomy detected by SNP arrays in MDS, MDS/MPD, and MDS-derived AML. *Blood* 2008;111:1534-1542.
  29. Palomo L, Xicoy B, Garcia O, et al. Impact of SNP array karyotyping on the diagnosis and the outcome of chronic myelomonocytic leukemia with low risk cytogenetic features or no metaphases. *Am J Hematol* 2016;91:185-192.
  30. Adema V, Hernandez JM, Abaigar M, et al. Application of FISH 7q in MDS patients without monosomy 7 or 7q deletion by conventional G-banding cytogenetics: does -7/7q detection by FISH have prognostic value? *Leuk Res* 2013;37:416-421.
  31. Bejar R, Stevenson KE, Caughey BA, et al. Validation of a prognostic model and the impact of mutations in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2012;30:3376-3382.
  32. Murphy DM, Bejar R, Stevenson K, Neuberg et al. NRAS mutations with low allele burden have independent prognostic significance for patients with lower risk myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 2013;27:2077-2081.
  33. Bejar R, Papaemmanuil E, Haferlach T, et al. Somatic mutations in MDS patients are associated with clinical features and predict prognosis independent of the IPSS-R: Analysis of combined datasets from the International Working Group for Prognosis in MDS-Molecular Committee. *Blood* 2015;126:907.
  34. Malcovati L, Karimi M, Papaemmanuil E, et al. SF3B1 mutation identifies a distinct subset of myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts. *Blood* 2015;126:233-241.
  35. Broséus J, Alpermann T, Wulfert M, et al. Age, JAK2(V617F) and SF3B1 mutations are the main predicting factors for survival in refractory anaemia with ring sideroblasts and marked thrombocytosis. *Leukemia* 2013;27:1826-1831.
  36. Yang YT, Hou HA, Liu CY, Linn CC, et al. IPSS-R in 555 Taiwanese patients with primary MDS: Integration of monosomal karyotype can better risk-stratify the patients. *Am J Hematol* 2014;89:142-149.
  37. Schanz J, Tchler H, Solé F, et al. Monosomal karyotype in MDS: explaining the poor prognosis? *Leukemia* 2013;27:1988-1995.
  38. Cluzeau T, Mounier N, Karsenti JM, et al. Monosomal karyotype improves IPSS-R stratification in MDS and AML patients treated with Azacitidine. *Am J Hematol* 2013;88:780-783.
  39. Patnaik MM, Hanson CA, Hodnefield JM, Knudson R, et al. Monosomal karyotype in myelodysplastic syndromes, with or without monosomy 7 or 5, is prognostically worse than an otherwise complex karyotype. *Leukemia* 2011;25:266-270.
  40. Valcárcel D, Adema V, Solé F, et al. Complex, not monosomal, karyotype is the cytogenetic marker of poorest prognosis in patients with primary myelodysplastic syndrome. *J Clin Oncol* 2013;31:916-922.
  41. Bejar R, Papaemmanuil E, Haferlach T, et al. TP53 Mutation status divides MDS patients with complex karyotypes into distinct prognostic risk groups: analysis of combined datasets from the International Working Group for MDS-Molecular Prognosis Committee. *Blood* 2014;124:532.
  42. List A, Dewald G, Bennett J, et al. Lenalidomide in the myelodysplastic syndrome with chromosome 5q deletion. *N Engl J Med* 2006;355:1456-1465.
  43. Jädersten M, Saft L, Smith A, et al. TP53 mutations in low-risk myelodysplastic syndromes with del(5q) predict disease progression. *J Clin Oncol* 2011;29:1971-1979.
  44. Mallo M, Del Rey M, Ibáñez M, Calasanz MJ, et al. Response to lenalidomide in myelodysplastic syndromes with del(5q): influence of cytogenetics and mutations. *Br J Haematol* 2013;162:74-86.
  45. Malcovati L, Hellström-Lindberg E, Bowen D, Adès L, et al. Diagnosis and treatment of primary myelo-



- dysplastic syndromes in adults: recommendations from the European LeukemiaNet. *Blood* 2013;122:2943-2964.
46. Steensma DP, Stone RM. Practical recommendations for hypomethylating agent therapy of patients with myelodysplastic syndromes. *Hematol Oncol Clin North Am* 2010;24:389-406.
  47. Itzykson R, Thépot S, Quesnel B, Dreyfus F, et al. Prognostic factors for response and overall survival in 282 patients with higher-risk myelodysplastic syndromes treated with azacitidine. *Blood* 2011;117:403-411.
  48. Schroeder MA, DeZern AE. Do somatic mutations in de novo MDS predict for response to treatment? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2015;2015:317-328.
  49. Itzykson R, Kosmider O, Cluzeau T, et al. Impact of TET2 mutations on response rate to azacitidine in myelodysplastic syndromes and low blast count acute myeloid leukemias. *Leukemia* 2011;25:1147-1152.
  50. Bejar R, Lord A, Stevenson K, et al. TET2 mutations predict response to hypomethylating agents in myelodysplastic syndrome patients. *Blood* 2014;124:2705-2712.
  51. Traina F, Visconte V, Elson P, et al. Impact of molecular mutations on treatment response to DNMT inhibitors in myelodysplasia and related neoplasms. *Leukemia* 2014;28:78-87.
  52. Welch JS, Petti A, Miller CA, et al. Dynamic changes in clonal clearance with decitabine therapy in AML and MDS patients. *Blood* 2015;126:689.
  53. Chang C, Zhao Y, Xu F, Li X. A primary study of the gene mutations in predicting treatment response to decitabine in patients with MDS. *Blood* 2015;126:1689.
  54. Bally C, Adès L, Renneville A, Sebert M, et al. Prognostic value of TP53 gene mutations in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia treated with azacitidine. *Leuk Res* 2014;38:751-755.
  55. Takahashi K, Patel K, Bueso-Ramos C, et al. Clinical implications of TP53 mutations in myelodysplastic syndromes treated with hypomethylating agents. *Oncotarget* 2016.doi: 10.18632.
  56. Hamilton BK, Visconte V, Jia X, et al. Impact of allogeneic hematopoietic cell transplant in patients with myeloid neoplasms carrying spliceosomal mutations. *Am J Hematol* 2016. doi: 10.1002/ajh.24306.
  57. Ustun C, Trottier BJ, Sachs Z, et al. Monosomal karyotype at the time of diagnosis or transplantation predicts outcomes of allogeneic hematopoietic cell transplantation in myelodysplastic syndrome. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015;21:866-872.
  58. Koenecke C, Göhring G, de Wreede LC, et al. Impact of the revised International Prognostic Scoring System, cytogenetics and monosomal karyotype on outcome after allogeneic stem cell transplantation for myelodysplastic syndromes and secondary acute myeloid leukemia evolving from myelodysplastic syndromes: a retrospective multicenter study of the European Society of Blood and Marrow Transplantation. *Haematologica* 2015;100:400-408.
  59. Christopheit M, Badbaran A, Alawi M, Zabelina T, et al. Correlation of somatic mutations with outcome after FLAMSA-busulfan sequential conditioning and allogeneic stem cell transplantation in patients with MDS. *Eur J Haematol* 2015. doi: 10.1111/ejh.12724.
  60. Bejar R, Stevenson KE, Caughey B, Lindsley RC, et al. Somatic mutations predict poor outcome in patients with myelodysplastic syndrome after hematopoietic stem-cell transplantation. *J Clin Oncol* 2014;32:2691-2698.
  61. Brierley CK, Steensma DP. Allogeneic stem cell transplantation in myelodysplastic syndromes: does pretransplant clonal burden matter? *Curr Opin Hematol* 2016;23:167-174.

**Azacitidina en síndromes mielodisplásicos: el costo de su beneficio**  
*Xavier López-Karpovitch*  
 Hospital Ángeles Pedregal, Ciudad de México

**Definición**  
 Los síndromes mielodisplásicos son un grupo de enfermedades clonales de las células tronco he-

matopoyéticas caracterizadas por: a) citopenia(s) y displasia en una o más de las líneas mieloides, b) hematopoyesis ineficaz y c) riesgo incrementado de leucemia mieloide aguda.<sup>1</sup>

**Fisiopatología**

La hematopoyesis ineficaz responsable de la(s) citopenia(s) en los síndromes mielodisplásicos se asocia con incremento de la apoptosis en la médula ósea. Se han identificado células tronco y células progenitoras mielodisplásicas con cambios genéticos, incluidas mutaciones. Un hallazgo constante es la hipermetilación génica que ocurre con mayor magnitud en estadios avanzados de la enfermedad. La evidencia de autoinmunidad en la fisiopatología de los síndromes mielodisplásicos es amplia. También se ha encontrado liberación disminuida de citocinas hematopoyéticas por linfocitos de pacientes con síndromes mielodisplásicos.<sup>2-5</sup>

**Azacitidina**

Este fármaco es un hipometilante sintetizado en 1964 por Sorm y colaboradores. La azacitidina disminuye la actividad de la metiltransferasa e inhibe la metilación de ADN ocasionando la desrepresión de genes normales.<sup>6</sup> El estudio pivote de azacitidina incluyó dos brazos, el experimental con 99 pacientes quienes recibieron azacitidina (75 mg/m<sup>2</sup>/día durante siete días cada 28 días por al menos cuatro ciclos, vía IV) y 92 enfermos que recibieron medidas de apoyo. A los pacientes sin respuesta al día 57 se les incrementó la dosis de azacitidina en 33%. Los enfermos en el grupo control con deterioro al cuarto mes se incluyeron en el grupo de azacitidina. En el grupo de azacitidina, 23% de los casos tuvieron respuesta completa o parcial y 37%, mejoría hematológica, mientras que del grupo de pacientes con medidas de apoyo ninguno tuvo respuesta y 5% mostró mejoría he-

matológica ( $p < 0.0001$ ). En el grupo de entrecruzamiento 14% tuvo respuesta completa o respuesta parcial y 33% mostró mejoría hematológica ( $p < 0.0001$ ).<sup>7</sup> Las respuestas con azacitidina se incrementan en la medida que se administran más ciclos, por ejemplo, con tres, cuatro y seis ciclos la proporción de enfermos respondedores es de 50, 75 y 90%, respectivamente.<sup>8</sup> No existen diferencias estadísticamente significativas en la farmacocinética y eficacia de la azacitidina administrada por vía IV y SC.<sup>9</sup> En la actualidad están en marcha estudios clínicos para identificar la dosis óptima de azacitidina que induzca los efectos benéficos de la hipometilación y evite el daño citotóxico a las células tronco hematopoyéticas.<sup>10</sup> La azacitidina está indicada en enfermos con neutropenia y trombocitopenia. Los pacientes con *Revised International Scoring System* (IPSS-R) o WPSS muy bajo, bajo e intermedio con: EPO  $< 500$  mU/mL y falla a EPO recombinante o EPO  $> 500$  mU/mL y falla a inmunosupresión. También en los enfermos con IPSS-R o WPSS alto y muy alto sin opción a trasplante de células hematopoyéticas se recomienda terapia con azacitidina (Guía NCCN, 2014).

El tratamiento con azacitidina puede, inicialmente, empeorar la condición clínica y los parámetros de la citometría hemática en la mayoría de los pacientes haciendo que declinen a continuar con el tratamiento. Las reacciones adversas grado 3/4 hematológicas incluyen: anemia (14 a 61%), neutropenia (24 a 61%) y trombocitopenia (56% a 58%). Las extrahematológicas incluyen: estreñimiento (1% a 3%), diarrea (0.6 a 3%), náusea (2 a 5%), vómito (0 a 3%), fatiga (3 a 5%) y pirexia (2 a 5%). A medida que transcurre el tratamiento con azacitidina la frecuencia de las reacciones adversas disminuye.<sup>11</sup>

En México para enero de 2016, el precio por ampolla de 100 mg de azacitidina (Vidaza<sup>MR</sup>) es de 11,500 pesos. Si como ejemplo se toma a un enfermo con 1.7 m<sup>2</sup> de superficie corporal y se administra la dosis recomendada de 75 mg/m<sup>2</sup>/día durante siete días, el precio por cada ciclo es de 102,235 pesos—se desperdician 73 mg de fármaco— y el costo por seis ciclos de tratamiento asciende a 613,410 pesos. Si el paciente responde, la recomendación es continuar con el tratamiento mensualmente, con lo que el costo por año es de 1,226,820 pesos. Con el esquema a dosis fija de 100 mg x día, el ahorro es de 21.3% y sin desperdicio de medicamento. Sin embargo, esta dosis no se apega a la posología indicada por la compañía farmacéutica.

En México, el tratamiento con azacitidina es asequible sólo para personas con seguro de gastos médicos (1%), con seguridad social como ISSSTE (7%) y otras entidades públicas (3%, INEGI, 2013). De acuerdo con datos de 2016, se estima que la población en México es de alrededor de 126,346,524 habitantes. Si se calcula el número de casos con síndromes mielodisplásicos en México y se usa información estadística de Estados Unidos con incidencia anual de 4.8 casos por 100,000 habitantes, el número de nuevos casos por año en México es de 6,065. El registro de síndromes mielodisplásicos del Registro Mexicano de Enfermedades Hematológicas (REMEDEH)<sup>12</sup> muestra que 44% de los casos son aptos para recibir azacitidina por tener IPSS-R con riesgo intermedio, alto y muy alto, que corresponde a 2,650 pacientes. Si esta cifra se ajusta por el número de enfermos sin ninguna comorbilidad (37%)<sup>12</sup> o por desempeño físico ECOG 0-1 (83%),<sup>12</sup> la cantidad de casos es de alrededor de 975 y 2,194, respectivamente, en promedio, 1,585

enfermos. Si la última cifra se multiplica por 12 ciclos de azacitidina, el precio anual aproximado del tratamiento de todos los enfermos con síndromes mielodisplásicos en México asciende a 1,944,510,000 pesos.

### Conclusión

Resulta claro que la azacitidina modifica de manera favorable la historia natural de los síndromes mielodisplásicos y mejora la calidad de vida de los pacientes. Sin embargo, el alto precio de la azacitidina y su aplicación por tiempo aún por definir hacen que su administración sea limitada en la población mexicana. Este lamentable escenario de asequibilidad quizá puede cambiar a través de: a) demostrar mediante un estudio prospectivo la efectividad de la azacitidina a dosis fija de 100 mg, b) reducir el precio del fármaco; es inaceptable que la compañía farmacéutica continúe comercializando a tan alto costo un fármaco sintetizado hace más de 50 años y c) reunir a los fabricantes y a la autoridad sanitaria de nuestro país para reducir el precio de venta de azacitidina.

### REFERENCIAS

1. Brunning RD, Orazi A, Germing U, LeBeau MM, et al. Myelodysplastic syndromes/neoplasms, overview. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Thiele J, et al, editors. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, IARC: Lyon 2008; 88-93.
2. Ades L, Itzykson R, Fenaux P. Myelodysplastic syndromes. *Lancet* 2014;383:2239-2252.
3. Woll PS, Kjällquist U, Chowdhury O, Doolittle H, et al. Myelodysplastic syndromes are propagated by rare and distinct human cancer stem cells *in vivo*. *Cancer Cell* 2014;25:794-808.
4. Parikh AR, Olnes MJ, Barrett AJ. Immunomodulatory treatment of myelodysplastic syndromes: an-

- tithymocyte globulin, cyclosporine, and alemtuzumab. *Semin Hematol* 2012;49:304-311.
5. López-Karpovitch X, Barrales-Benitez O, Flores M, Piedras J. Effect of azacitidine in the release of leukemia inhibitory factors, oncostatin M, interleukin (IL)-6, and IL-11 by mononuclear cells of patients with refractory anemia. *Cytokine* 2001;20:154-162.
  6. Leone G, Teofili L, Voso MT, Lübbert. DNA methylation and demethylating drugs in myelodysplastic syndromes and secondary leukemias. *Haematologica* 2002;87:1324-1341.
  7. Silverman LR, Demakos EP, Peterson BL, Kornblith AB, et al. Randomized controlled trial of azacitidine in patients with the myelodysplastic syndrome: a study of the cancer and leukemia group B. *J Clin Oncol* 2002;20:2429-2440.
  8. Silverman LR, McKenzie DR, Peterson BL, Holland JF, et al. Further analysis of trials with azacitidine in patients with myelodysplastic syndrome: studies 8421, 8921, and 9221 by the cancer and leukemia group B. *J Clin Oncol* 2006;24:3895-3903.
  9. Uchida T, Ogawa Y, Kobayashi Y, Ishikawa T, Ohashi H, Hata T, et al. Phase I and II study of azacitidine in Japanese patients with myelodysplastic syndromes. *Cancer Sci* 2011;102:1680-1686.
  10. Sauntharajah Y. Key clinical observations after 5-azacitidine and decitabine treatment of myelodysplastic syndromes suggest practical solutions for better outcomes. *Hematology* 2013:511-521.
  11. Santini V, Fenaux P, Mufti GJ, Hellsström-Lindberg E, et al. Management and supportive care measures for adverse events in patients with myelodysplastic syndromes treated with azacitidine. *European J Haematol* 2010;85:130-138.
  12. Rodríguez González MG, Montaña Figueroa E, Hernández Pérez CR, Martínez Ibarra Y, et al. Registro mexicano de enfermedades hematológicas (REMEDEH): un estudio multicéntrico de casos con síndromes mielodisplásicos (SMD) en adultos. *Rev Hematol Mex* 2014;15(Supl 1):189.

### Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en síndrome mielodisplásico: consideraciones acerca de los factores que influyen en la decisión terapéutica

Elena Tuna-Aguilar

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Ciudad de México

Los síndromes mielodisplásicos representan la clase más común de síndromes de insuficiencia medular adquirida en adultos. Colectivamente se distinguen por insuficiencia medular y citopenias en sangre periférica, hematopoyesis oligoclonal, características displásicas en la morfología celular e inestabilidad genómica con tendencia a progresar a leucemia mieloide aguda.<sup>1,2</sup> La mediana de supervivencia global es variable, entre 0.9 años a no alcanzada en menores de 60 años y de 0.7 a 5.9 años en mayores de 70 años.<sup>3</sup> El síndrome mielodisplásico es una enfermedad predominantemente del anciano, cerca de 80% de los pacientes son diagnosticados después de los 60 años de edad con mediana al diagnóstico de 76 años.<sup>4</sup> En los últimos 10 años, el tratamiento médico de los síndromes mielodisplásicos ha contemplado medidas de soporte, como factores de crecimiento hematopoyético, transfusiones y antibióticos que ayudan a incrementar la supervivencia; aunque no curativos, los agentes hipometilantes pueden mejorar la función medular y dilatar la progresión a leucemia aguda y así extender la supervivencia global.<sup>5</sup> Sin embargo, el único tratamiento curativo hasta el momento es el alotrasplante de células progenitoras hematopoyéticas (aloTCPH).<sup>6</sup> El problema de este procedimiento es que la mayoría de los pacientes son adultos mayores y con comorbilidades que aumentan el riesgo de mortalidad asociada con el tras-

plante. Con la introducción de los regímenes de acondicionamiento de intensidad reducida, la mortalidad no relacionada con recaída podría disminuir, especialmente en los pacientes ancianos. Sin embargo, la recaída es el factor que influye de manera más importante en la supervivencia global después de que los pacientes sobreviven a la toxicidad aguda; los datos publicados sugieren que únicamente una tercera parte de los pacientes ancianos experimenta supervivencia libre de enfermedad a largo plazo.<sup>7</sup> La manipulación del injerto *in vivo* con azacitidina post-aloTCPH o con inmunoterapias específicas podría disminuir la frecuencia de recaída.<sup>8</sup> Los factores de riesgo más significativos para el resultado post-aloTCPH de donador HLA idéntico son: escaso riesgo citogenético, carga tumoral y comorbilidades al momento del procedimiento.<sup>9</sup> El riesgo citogenético lo estudiaron Koenecke y su grupo considerando el efecto de los cinco grupos de riesgo citogenético del IPSS-R en el resultado del alotrasplante en 903 pacientes con síndrome mielodisplásico y leucemia mieloide aguda secundaria, y pudieron disecar claramente tres grupos de pronóstico; encontraron que la citogenética de pobre y muy pobre riesgo fue un predictor independiente de corta supervivencia libre de recaída (razón de riesgo [HR] 1.40 y 2.14), de supervivencia global (HR 1.38 y 2.14) y de incidencia de recaída acumulativamente mayor (HR 1.64 y 2.76) en comparación con pacientes de riesgo muy bueno, bueno o intermedio.<sup>10</sup>

### Consideraciones para la elección del tratamiento por cálculo de riesgo

Los sistemas de estratificación de riesgo, como el IPSS (*International Scoring System*) o IPSS-R (*Revised International Scoring System*), complementados con evaluaciones genéticas moleculares, son

de utilidad para tomar la decisión terapéutica.<sup>11</sup> El trasplante temprano toma lugar durante el curso de la enfermedad. Por un lado, los pacientes con enfermedad menos avanzada no deben exponerse al riesgo sustancial de la mortalidad relacionada con el trasplante (principalmente debida a infección o a enfermedad injerto contra huésped), que comprende alrededor de 30% de los pacientes en remisión post-alotCPH. De acuerdo con los modelos de decisión terapéutica, los pacientes con riesgo intermedio 2 o alto deben someterse a alotCPH si existe donador compatible. Sin embargo, este análisis realizado por Cutler y su grupo se restringió a pacientes con síndrome mielodisplásico menores de 60 años y no refleja los resultados de la población de adultos mayores con síndromes mielodisplásicos que frecuentemente padecen comorbilidades. Desde entonces, la alternativa terapéutica con agentes hipometilantes ha sido el tratamiento estándar para este grupo de población.<sup>7</sup> No obstante, recientemente se publicaron dos análisis retrospectivos que sugieren la superioridad del alotCPH en pacientes ancianos con síndromes mielodisplásicos de alto riesgo, en comparación con los que recibieron agentes hipometilantes, aunque el beneficio observado ocurrió con cierto retardo postrasplante.<sup>12,13</sup> En general, los pacientes con IPSS intermedio 1 no deben ser alotrasplantados, a menos que incluyan factores de pronóstico adverso, como citogenética de alto riesgo, trombocitopenia severa o alta dependencia transfusional.<sup>7,14</sup> Otro grupo que debe considerarse es el de los pacientes de bajo riesgo según la clasificación pronóstica y mielofibrosis grado II o mayor, porque se asocian con mayor riesgo de progresión a leucemia aguda.<sup>15</sup> Asimismo, los pacientes con riesgo

intermedio 2 o alto, incluidos los adultos mayores (en quienes se puede realizar un acondicionamiento de intensidad reducida), deben ser aptos para someterse a ese procedimiento y esto se ha considerado consecuencia de los resultados en los pacientes con síndromes mielodisplásicos de alto riesgo, que se han tratado con hipometilantes y han perdido la respuesta con resultados diezmales, lo que sugiere que debería preferirse el trasplante temprano durante la respuesta a estos agentes o al estado de inminente recaída.<sup>15,16</sup> Un análisis del centro de investigación para el trasplante internacional de sangre y médula ósea (CIBMTR) demostró que el trasplante temprano se asocia con esperanza máxima de vida en pacientes con IPSS intermedio 2 y alto riesgo, mientras que los de bajo riesgo e intermedio 1 sin requerimientos transfusionales pueden beneficiarse tardíamente según la evolución de la enfermedad.<sup>15</sup>

#### **Selección del donador**

Se prefieren donadores jóvenes no relacionados sobre los donadores relacionados 100% compatibles mayores de 65 años; un estudio retrospectivo reciente sugiere mejor supervivencia con donadores no relacionados menores de 30 años comparados con los mayores relacionados, aunque esta conclusión no la han confirmado otros estudios. El trasplante a partir de progenitores hematopoyéticos de médula ósea y no de sangre periférica muestra resultados comparables a largo plazo y menos frecuencia de enfermedad injerto contra huésped, excepto en los regímenes de acondicionamiento de intensidad reducida en los que el efecto injerto contra enfermedad es de gran importancia.<sup>17</sup> El trasplante haploidéntico ha evolucionado con los años y ha abierto la posibilidad de mayor número de pacientes alotrasplantados.<sup>17</sup>

#### **Comorbilidades en pacientes ancianos**

El grupo europeo de trasplante de sangre y médula ósea (EBMT) y el

CIBMTR demostraron que la edad calendario no es un factor que influya en el resultado del trasplante y que no debería ser contraindicación para realizar el procedimiento, por lo que son elegibles los pacientes no mayores a 70 años;<sup>18</sup> sin embargo, el desempeño físico y las comorbilidades sí son factores adversos, por lo que debe utilizarse el índice de comorbilidad del trasplante de células hematopoyéticas (Sorrór) para asegurar los mejores resultados y no someter al paciente a un riesgo innecesario.<sup>19</sup> Se considera que los pacientes con índice de comorbilidad de 3 o mayor no deben ser alotrasplantados.<sup>20</sup>

#### **Manejo previo al trasplante**

El valor de la quimioterapia de inducción en la leucemia mieloide aguda y los síndromes mielodisplásicos avanzados aún no es claro fuera de estudios con distribución al azar; dos estudios retrospectivos recientes demostraron que el tratamiento con azacitidina pretrasplante comparado con quimioterapia de inducción permite resultados similares después del alotCPH. Sin embargo, la alta frecuencia de remisiones completas con quimioterapia comparada con hipometilantes puede ser una opción en pacientes selectos.<sup>17</sup>

#### **Estudios prospectivos**

A la fecha, un único estudio prospectivo fue completado por el grupo francés encabezado por Robin,<sup>21</sup> en el que se evaluó el trasplante de pacientes con síndrome mielodisplásico de riesgo intermedio 2 o alto que contaran con donador (n=129) *versus* el grupo no trasplantado por falta de donador (n=34), y se demostró claramente la ventaja de supervivencia global de los trasplantados sobre los no trasplantados (p=0.03), esta fue aparente tras dos años de seguimiento.

El estudio prospectivo *VIDAZALLO trial* (NCT01404741), iniciado en 2011 por el grupo alemán, estará



completo en junio de 2016 y compara la eficacia de 5-azacitidina *versus* 5-azacitidina seguida por aloTCPH en pacientes ancianos con síndrome mielodisplásico; todos los pacientes recibirán cuatro a seis ciclos de 5-azacitidina y cuando estén en condiciones biológicas óptimas serán alotrasplantados según la disponibilidad de donador relacionado o no (compatibilidad 8/8), los sujetos que no cuenten con donador continuarán recibiendo 5-azacitidina; se espera determinar diferencia significativa en el resultado de la intervención si a los tres años de seguimiento el brazo de aloTCPH logra 50% de supervivencia comparado con 30% del grupo no trasplantado.<sup>22</sup>

El otro estudio que está en proceso es el BMT-CTN1102 (NCT01026781), "AloTCPH vs hipometilantes/mejores medidas de soporte en síndrome mielodisplásico", está en periodo de reclutamiento desde diciembre 2013 y finalizará en diciembre de 2019, estudiará la calidad de vida además de la diferencia en los resultados de ambos tratamientos.<sup>23</sup>

**Experiencia en México**

Son pocos los datos publicados en México acerca de trasplante en síndrome mielodisplásico,<sup>24</sup> la serie más reciente del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ), recabada por León-Rodríguez y su grupo (datos no publicados) analizó 17 pacientes con síndrome mielodisplásico alotrasplantados entre 2002 y 2016, la mediana de edad al trasplante de células progenitoras hematopoyéticas fue de 34 años, 59% eran mujeres. Según la clasificación del síndrome mielodisplásico: 53% padecía síndrome mielodisplásico hipoplásico, 18% anemia resistente y 29% citopenia resistente con displasia multilineaje. Según la fuente de células madre: 82% de médula ósea estimulada, 12% de médula ósea sin estimular, 6% de médula ósea y sangre perifé-

rica. Todos los pacientes recibieron BUCY2 reducido (busulfán 12 mg/kg/día durante cuatro días y ciclofosfamida 40 mg/kg/día durante dos días). La cantidad mediana de células CD34+ infundidas fue de 2.28x10<sup>6</sup>/kg de peso del receptor. La enfermedad injerto contra huésped aguda sobrevino en 12% de los pacientes que en su totalidad evolucionaron a enfermedad injerto contra huésped crónica y siguen en tratamiento inmunosupresor. No hubo recaídas de la enfermedad, pero hubo dos muertes por procesos infecciosos. A pesar de ser un grupo pequeño, la mortalidad relacionada con recaída fue nula y la mortalidad relacionada con el tratamiento fue de 12%.<sup>25</sup> Figura 1 Asimismo, debe considerarse que el costo del tratamiento estándar (5-azacitidina) de 628 dólares por vial<sup>26</sup> no es accesible para la mayoría de la población mexicana, sobre todo porque lo ideal es administrarlo por tiempo indefinido mientras dure la respuesta, y el del aloTCPH (según

el análisis económico realizado hasta 2014 en el INNSZ) es de 323,834 pesos mexicanos (24,910 dólares),<sup>27</sup> que corresponde a 2.7% del costo en Estados Unidos (930,600 dólares),<sup>28</sup> por lo que en el paciente con indicaciones precisas continuará siendo una buena opción terapéutica.

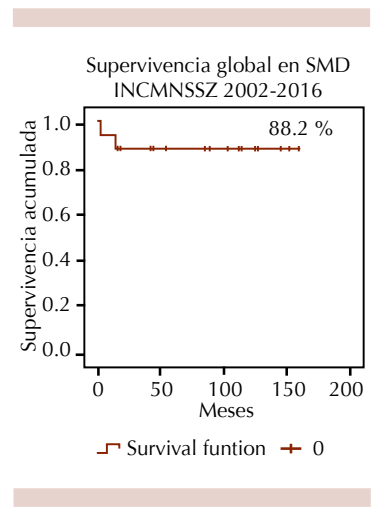
**Conclusiones**

Actualmente el aloTCPH continúa siendo el único tratamiento curativo para los pacientes con síndrome mielodisplásico. La decisión de tratamiento debe sustentarse cuidadosamente según riesgo por IPSS, riesgo citogenético pobre, trombocitopenia, mielofibrosis grado II y frecuencia de requerimientos transfusionales. Los pacientes con riesgo por IPSS intermedio 2 y alto son aptos para someterse a trasplante temprano o a tratamiento con hipometilantes si no hay posibilidad de donador compatible.

La edad mayor de 60 años no es una contraindicación para aloTCPH, las comorbilidades y el estado funcional del paciente sí lo son. Existe la opción de acondicionamiento de intensidad reducida con buenos resultados. El tratamiento con 5-azacitidina puede prescribirse como puente para realizar un aloTCPH.

**REFERENCIAS**

1. Steensma DP, et al. Disparity in perceptions of disease characteristics, treatment effectiveness, and factors influencing treatment adherence between physicians and patients with myelodysplastic syndromes. *Cancer* 2014;120:1670-1676.
2. Steensma DP. Myelodysplastic syndromes: diagnosis and treatment. *Mayo Clin Proc* 2015;90:969-983.
3. Greenberg P, Tuechler H, et al. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood* 2012;120:2454-2465.
4. Ma X, Does M, Raza A, Mayne ST. Myelodysplastic syndromes: incidence and survival in the United States. *Cancer* 2007;109:1536-1542.



**Figura 1.** Supervivencia global en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición 2002-2016.

Fuente: Archivo del servicio de Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos, INCMNSZ.<sup>28</sup>



5. Fenaux P, et al. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncol* 2009;10:223-232.
6. Kindwall-Keller T, Isola LM. The evolution of hematopoietic SCT in myelodysplastic syndrome. *Bone Marrow Transplant* 2009;43:597-609.
7. Platzbecker U. Allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with myelodysplastic syndromes. *Semin Hematol* 2012;49:342-349.
8. Bejar R, Steensma DP. Recent developments in myelodysplastic syndromes. *Blood* 2014;124:2793-2803.
9. Barrett AJ, Savani BN. Allogeneic stem cell transplantation for myelodysplastic syndrome. *Semin Hematol* 2008;45:49-59.
10. Koenecke C, et al. Impact of the revised International Prognostic Scoring System, cytogenetics and monosomal karyotype on outcome after allogeneic stem cell transplantation for myelodysplastic syndromes and secondary acute myeloid leukemia evolving from myelodysplastic synd. *Haematologica* 2015;100:400-408.
11. Roberts DA, Steensma DP. Outlook and management of patients with myelodysplastic syndromes failed by hypomethylating agents. *Curr Hematol Malig Rep* 2015;10:318-328.
12. Platzbecker U, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients age 60-70 years with de novo high-risk myelodysplastic syndrome or secondary acute myelogenous leukemia: comparison with patients lacking donors who received azacitidine. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012;18:1415-1421.
13. Koreth J, et al. Role of reduced-intensity conditioning allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation in older patients with de novo myelodysplastic syndromes: an international collaborative decision analysis. *J Clin Oncol* 2013;31:2662-2670.
14. Platzbecker U, Hofbauer LC, Ehninger G, Hölig K. The clinical, quality of life, and economic consequences of chronic anemia and transfusion support in patients with myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2012;36:525-536.
15. Sockel K, Platzbecker U. When to transplant MDS, and what to do when transplant fails. *Curr Hematol Malig Rep* 2013;8:379-385.
16. Prébet T, et al. Outcome of high-risk myelodysplastic syndrome after azacitidine treatment failure. *J Clin Oncol* 2011;29:3322-3327.
17. Platzbecker U. Who benefits from allogeneic transplantation for myelodysplastic syndromes?: new insights. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2013;2013:522-528.
18. McClune BL, et al. Effect of age on outcome of reduced-intensity hematopoietic cell transplantation for older patients with acute myeloid leukemia in first complete remission or with myelodysplastic syndrome. *J Clin Oncol* 2010;28:1878-1887.
19. Sorror ML. How I assess comorbidities before hematopoietic cell transplantation. *Blood* 2013;121:2854-2863.
20. Sorror ML. Comorbidities and hematopoietic cell transplantation outcomes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Progr* 2010;2010:237-247.
21. Robin M, Porcher R, Ades L, et al. Outcome of patients with IPSS intermediate (int) or high risk myelodysplastic syndrome (MDS) according to donor availability: a multicenter prospective non interventional study for the SFGM-TC and GFM. New Orleans: American Society of Hematology, 55<sup>th</sup> ASH Annual Meeting and Exposition, 2013.
22. 5-azacytidine treatment *versus* 5-azacytidine followed by allogeneic stem cell transplantation in elderly patients with myelodysplastic syndrome (MDS). Full text view. *Clinical Trials*, U. S. National Institutes of Health.
23. Allo vs hypomethylating/best supportive care in MDS ( BMT CTN full title of study). *Clinical Trials*, U. S. National Institutes of Health 2013.
24. León-Rodríguez E. Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en síndromes mielodisplásicos. *Rev Invest Clin* 2005;57:283-290.
25. León-Rodríguez E, Rivera-Franco M, et al. Archivo del Servicio de Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos, INNSZ.
26. Levy AR, et al. Cost-effectiveness in Canada of azacitidine for the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes. *Current Oncology* 2014;21:29-40.
27. Incmnsz, EDEL, Si, P. Álvarez, LCE, Cortina C. Costos del trasplante de cph en adultos; experiencia del INCMNSZ.
28. Bentley TS, Hanson SG. 2014 U.S. organ and tissue transplant cost estimates and discussion. *Milliman Res Rep* 2014;1-16.[abstract]. *Blood Meeting Abstracts*. 2013;122:301.

### Aspectos genéticos y moleculares relevantes para el pronóstico en pacientes con leucemia linfocítica aguda

*Erick Crespo-Solis*

Departamento de Hematología y Oncología, Hospital Regional de Alta Especialidad de Ciudad Victoria, Tamaulipas

A lo largo del tiempo, la identificación de factores de riesgo de recaída y supervivencia en pacientes con leucemia linfocítica aguda ha sido un aspecto de la enfermedad con gran variabilidad entre los diversos grupos de investigadores. Lo anterior puede explicarse por las siguientes razones:

1. Incidencia de la enfermedad entre diferentes grupos etarios, que van desde la temprana infancia hasta los adultos mayores.
2. Factores de riesgo que con el tiempo se han superado por el diseño de protocolos de quimioterapia más intensivos.
3. Identificación de la enfermedad residual mínima como un factor de riesgo independiente y toma de decisiones con base en ello.
4. Desarrollo de fármacos dirigidos contra blancos moleculares, en particular anticuerpos monoclonales e inhibidores de tirosin-cinasa.
5. Identificación de marcadores genéticos y recientemente de

nuevas firmas genéticas con repercusión en la evolución de la enfermedad

Es del conocimiento general entre hematólogos que la leucemia linfocítica aguda es el cáncer más frecuente de la infancia, cuya incidencia se observa como un fenómeno constante entre poblaciones.<sup>1</sup> Aunque la enfermedad es menos frecuente en los adolescentes, los adultos jóvenes y los adultos mayores, éstos son grupos con características particulares que representan un reto en el tratamiento debido a las bajas tasas de curación de la enfermedad. La incidencia de anomalías citogenéticas con relevancia en el pronóstico es distinta entre los grupos etarios; los niños tienen con mayor frecuencia datos de buen pronóstico, lo que en parte ha contribuido a las mejores tasas de supervivencia observadas en este grupo.<sup>2</sup>

Durante este decenio, el tratamiento de adultos con leucemia linfocítica aguda se ha dirigido hacia la aplicación de protocolos de tratamiento inspirados en regímenes pediátricos o esquemas pediátricos propiamente dichos.<sup>3-5</sup> Asimismo, la enfermedad residual mínima (ERM) se utiliza como un factor de riesgo para estratificar y ajustar los esquemas de tratamiento.<sup>6-8</sup>

La suma de estas estrategias ha mejorado las curvas de supervivencia de pacientes con leucemia linfocítica aguda, en particular la de los niños, lo que ha generado la necesidad de reevaluar la estratificación de riesgo con base en las nuevas variables, como enfermedad residual mínima y algunos marcadores genéticos.<sup>9,10</sup> Los nuevos genes identificados con mayor relevancia para incluirse en un sistema de clasificación de riesgo según el linaje son los siguientes: en los casos de leucemia linfocítica aguda B está la delección del gen *IKZF1* que confiere un peor pronóstico,

en particular en los casos Ph(-). En pacientes con leucemia linfocítica aguda T las mutaciones de la vía de *NOTCH1* se asocian con mejor pronóstico y posteriormente esta estratificación puede refinarse con las mutaciones de mal pronóstico de los genes *N/K-RAS* o *PTEN*. Con este modelo se ha comprobado que la enfermedad residual mínima positiva ( $\geq 10^{-4}$  posinducción) y los perfiles genéticos desfavorables (rearrreglo de *MLL* o delección focal de *IKZF1* en leucemia linfocítica aguda B y ausencia de la mutación *NOTCH/FBXW7*, la existencia de mutaciones de *N/K-RAS* o *PTEN* [o las tres] en leucemia linfocítica aguda T) son factores independientes de recaída.<sup>10</sup>

El entendimiento respecto de la patogénesis y el comportamiento clínico de la leucemia linfocítica aguda han mejorado gracias a los estudios con técnicas de micromatrices (*microarrays*), expresión génica, alteraciones en el número de copias de ADN y secuenciación genómica (*next generation sequencing*). Por ello, la mayor parte de los genomas de leucemia linfocítica aguda tiene alteraciones estructurales y de secuencia de ADN que involucran genes codificantes, así como alteraciones de elementos no codificantes, como ARN no codificante y promotores.<sup>11</sup>

Hace poco, en una revisión de los aspectos genéticos de pacientes con leucemia linfocítica aguda publicada por Hunger y Mullighan<sup>11</sup> se describieron las principales características y subtipos con base en alteraciones encontradas en la última década. A continuación se describen los principales subtipos y conceptos: En la actualidad están identificados 21 subtipos genéticos principales de leucemia linfocítica aguda y éstos son dependientes de la estirpe: 12 para leucemia linfocítica aguda B y 9 para leucemia linfocítica aguda T (Cuadro 1).

### Vías mutadas frecuentemente

- Los rearrreglos cromosómicos y las aneuploidías son eventos tempranos en la leucemogénesis.
- Subsecuentemente se producen alteraciones en el número de copias de ADN y en la secuencia de ADN.
- Las delecciones focales son el tipo más frecuente de alteración genética estructural, en particular en la leucemia linfocítica aguda B. Éstas incluyen a los genes *IKZF1*, *PAX5* y *EBF1*, que codifican factores de transcripción de unión al ADN.
- Las vías mutadas con frecuencia son las de regulación del ciclo celular, de supresión tumoral, de receptor de citocinas, de cinasas de tirosina, de señalización de *Ras* y de modificadores epigenéticos. Los tipos de alteraciones pueden ser rearrreglos cromosómicos, delección-amplificación y mutaciones en la secuencia.
- Ahora se sabe que ciertos genes que participan en las vías previamente señaladas se relacionan con recaída y falla del tratamiento (por ejemplo, la familia de IKAROS en casos de leucemia linfocítica aguda Ph-like y leucemia linfocítica aguda *BCR-ABL1*).

### Alteraciones que resultan en activación de cinasas y leucemia linfocítica aguda Ph-like

- Los casos de leucemia linfocítica aguda Ph-like carecen de *BCR-ABL1*, tienen un perfil de expresión génica similar a la de casos *BCR-ABL1*, tienen alteraciones de los genes factor de transcripción linfocítico B y se relacionan con pronóstico adverso.
- La prevalencia de leucemia linfocítica aguda Ph-like se incrementa con la edad y varía de acuerdo con la etnicidad, lo anterior se ha observado en particular con las alteraciones de *CRLF2*

**Cuadro 1.** Principales subtipos genéticos de leucemia linfocítica aguda. Continúa en la siguiente página

Subtipo	Prevalencia (%)	Comentario
<b>Leucemia linfocítica aguda de precursores B</b>		
Hiperdiploidía con más de 50 cromosomas	20-30	Excelente pronóstico
Hipodiploidía con menos de 44 cromosomas	2-3	Pronóstico adverso, frecuencia alta de mutaciones de la vía de <i>Ras</i> y de la familia del gen <i>Ikaros</i>
t(12;21) (p13;q22) translocación codificante de <i>ETV6-RUNX1</i>	15-25	Excelente pronóstico
t(1;19) (q23;p13) translocación codificante de <i>TCF3-PBX1</i>	2-6	Incidencia incrementada en afroamericanos. Generalmente excelente pronóstico; asociado con recaída en el sistema nervioso central
t(9;22) (q34;q11.2) translocación codificante de <i>BCR-ABL1</i>	2-4**	Históricamente con evolución adversa, pero ha mejorado con la adición de imatinib o dasatinib al tratamiento de quimioterapia intensiva
Leucemia linfocítica aguda Ph-like	10-15	Múltiples lesiones activadoras de cinasas. Asociada con mayor edad, mutaciones de del gen <i>IKZF1</i> . Potencialmente respondedores a TKIs
t(4;11) (q21;q23) translocación codificante de la fusión <i>MLL-AF4</i>	1-2	Común en la leucemia linfocítica aguda de la infancia (menores de seis meses de edad); pronóstico adverso
t(8;14) (q24;q32), t(2;8) (q12;q24), (2;8) (q12;q24) codificante; rearreglo de <i>MYC</i>	2	Pronóstico favorable con quimioterapia a dosis altas de corta duración
Rearreglo de <i>CRLF2</i> ( <i>IGH-CRLF2</i> ; <i>P2RY8-CRLF2</i> )	5-7	Común en leucemia linfocítica aguda asociada con síndrome de Down y con leucemia linfocítica aguda Ph-like (hasta 50% cada una), asociado con delección de <i>IKZF1</i> , con la mutación de <i>Jak2</i> (o con ambas) y pronóstico adverso en casos de leucemia linfocítica aguda no asociados con síndrome de Down
Leucemia linfocítica aguda con <i>ERG</i> mal regulado	Hasta 7%	Perfil genético distintivo. La mayoría tiene delecciones de <i>ERG</i> y buen pronóstico a pesar de alteraciones en <i>IKZF1</i>
Rearreglo de <i>PAX5</i>	Hasta 2%	Múltiples compañeros; comúnmente provenientes de dic(7;9), dic(9;12), dic(9;20)
iAMP21	Hasta 2%	Alteraciones estructurales complejas del cromosoma 21; raramente asociado con una translocación robertsoniana Rob(15;21) (q10;q10)c; pronóstico adverso
<b>Leucemia linfocítica aguda de precursores T</b>		
t(1;7) (q32;q25), t(1;14) (q32;q11) y la delección intersticial de 1p32; mala regulación de <i>TAL1</i>	15-18	Por lo general pronóstico favorable
t(11;14) (q15;q11) translocación y delección 5' de <i>LMO2</i> ; mala regulación de <i>LMO2</i>	10	Por lo general pronóstico favorable
t(10;14) (q24;q11), t(7;10) (q35;q24), mala regulación de <i>TLX1</i> ( <i>HOX11</i> )	7	Buen pronóstico
t(5;14) (q35;q32); mala regulación de <i>TLX3</i>	20	Por lo común fusionado con <i>BCL11B</i> , también blanco de delecciones, mutaciones o ambas. Pronóstico adverso
t(10;11) (p13;q14); <i>PICALM-MLLT10</i> , [ <i>CALM-AF10</i> ]	10	Pueden tener mala evolución
<i>MLL-MLLT1</i> ( <i>MLL-ENL</i> )	2-3	Pronóstico superior que algunas leucemias linfocíticas agudas con rearreglo de <i>MLL</i>
Amplificación 9q34 codificante de <i>NUP214-ABL1</i>	6	Potencialmente respondedores a TKIs. Identificado en leucemia linfocítica aguda B de mal pronóstico. Otras fusiones de cinasas identificadas en leucemia linfocítica aguda T incluyen <i>EML1-ABL1</i> , <i>ETV6-JAK2</i> y <i>ETV6-ABL1</i>
t(7;9) (q34;q34)	<1	Rearreglo de <i>NOTCH1</i> , también mutaciones de secuencia en más de 50% de las leucemias linfocíticas agudas T

**Cuadro 1.** Principales subtipos genéticos de leucemia linfoide aguda. Continuación

Subtipo	Prevalencia (%)	Comentario
Leucemia linfoide aguda de precursores T tempranos	10-15	Inmunofenotipo inmaduro; expresión de marcadores mieloides, de células tallo o ambos, históricamente con pronóstico adverso, aunque ha mejorado en estudios recientes, genéticamente heterogénea con mutaciones en reguladores de la hematopoyesis, señalización de Ras y modificadores epigenéticos.

Modificado de la referencia 11.

\* 25% en adultos (obtenido del texto de mismo artículo de referencia).

TKIs: inhibidores de tirosin-cinasa.

- asociadas con origen hispano y ancestros nativos americanos.
- La leucemia linfoide aguda Ph-like se distingue por un espectro de alteraciones genéticas diversas que alteran la regulación de los receptores de citocinas y la señalización de cinasas de tirosina. Se han identificado varios tipos de alteraciones de cinasas en la leucemia linfoide aguda Ph-like en más de 1,700 casos estudiados con leucemia linfoide aguda B:
  - 47% rearreglos de *CRLF2*
  - 12% rearreglos en genes cinasas de tirosina de clase-*ABL*
  - 7% rearreglos de *JAK2*
  - 10% rearreglos de *EPOR*
  - 11% mutaciones activadoras de la señalización *JAK-STAT* y 6% de *Ras*

**Leucemia linfoide aguda con hipodiploidía**

La hipodiploidía (menos de 44 cromosomas) se asocia con mal pronóstico. Existen varios subgrupos de hipodiploidía:

- La leucemia linfoide aguda casi haploide (24-31 cromosomas) es de las más frecuentes. Tiene perfiles transcripcionales distintivos y alteraciones genéticas submicroscópicas. Se distingue por mutaciones activadoras de *Ras*, más frecuentemente deleciones de

*NF1*, pero también mutaciones de *NRAS*, *KRAS* y *PTPN11* e inactivación *IKZF3*.

- Leucemia linfoide aguda hipodiploide bajo (32-39 cromosomas). Es de las más frecuentes. Tiene perfiles transcripcionales distintivos. Alteraciones genéticas submicroscópicas. Alteraciones bialélicas de *TP53*. Deleciones de *CDKN2A/B*, de *RB1* e inactivación de *IKZF2*.
- Leucemia linfoide aguda hipodiploide alto (40-43 cromosomas). Es poco frecuente.
- Leucemia linfoide aguda casi diploide (44-45 cromosomas). Es una entidad aparte, frecuentemente se distingue por la fusión *ETV6-RUNX1* o rearreglos que forman cromosomas dicéntricos. En la mitad de los casos las mutaciones de *TP53* son germinales. También se han identificado otras mutaciones germinales en leucemias linfoides agudas hipodiploides en los genes *NRAS* y *PTPN11*.

**Leucemia linfoide aguda con ERG mal regulado**

Alrededor de 7% de los casos de leucemia linfoide aguda B en niños y adultos tiene una expresión genómica distintiva, pero sin un rearreglo cromosómico que los unifique. Estos casos, por lo regular,

tienen deleciones focales de *ERG* que codifica un factor de transcripción de la familia ETS; también identificado en cáncer de próstata. Esta anomalía genera una proteína ERG aberrante. Se asocia con alteraciones de *IKZF2* pero, a diferencia de las leucemias linfoides agudas Ph-like y de las leucemias linfoides agudas *BCR-ABL1*, esto no confiere mal pronóstico.

**Amplificación intracromosomal del cromosoma 21 (iAMP21)**

Esta anomalía ocurre incluso en 2% de los pacientes con leucemia linfoide aguda B y se define como la ganancia de al menos tres copias de parte del cromosoma 21 que incorpora *RUNX1*. Esta anomalía de asocia con edad avanzada al diagnóstico y mal pronóstico. La amplificación intracromosomal del cromosoma 21 carece de translocaciones cromosómicas recurrentes, pero se asocia con la translocación robertsoniana constitucional t(15;21).

**De linaje T**

La leucemia linfoide aguda T también se distingue por translocaciones que alteran la regulación de factores de transcripción, comúnmente por rearreglos en los locus del receptor antigénico de células T, mutaciones de secuencia recurrentes, alteraciones en el número de copias de ADN que ocasionan interrupción de la maduración,

de la señalización y de las vías de supresión tumoral, eso incluye los genes *BCL11B*, *NOTCH1*, *FBXW7*, *MYB*, *PTEN*, *RB1*; otros genes adicionales son *PHF6* y *WT1*, cuya repercusión en la patogénesis aún se desconoce.

La leucemia linfóide aguda de precursores T tempranos es una entidad recientemente descrita y se distingue por expresión reducida de marcadores T (CD1a, CD8, CD5), expresión aberrante de marcadores mieloides y de células tallo. Tiene mal pronóstico; sin embargo, éste se ha superado con esquemas de quimioterapia ajustados al riesgo. Esta leucemia es genéticamente heterogénea y se caracteriza por mutaciones de múltiples vías celulares que incluyen:

- Maduración hematopoyética y linfóide (*RUNX1*, *IKZF1*, *ETV6*, *GATA3*, *EP300*).
- Ras, receptor de citocinas y señalización de cinasas (*NRAS*, *IL7R*, *KRAS*, *JAK1*, *JAK3*, *NF1*, *PTPN11* y *SH2B3*).
- Mutaciones con pérdida de la función que afectan reguladores epigenéticos. Frecuentemente involucra *PRC2*, *EZH2*, *SUZ12* y *EED*.

#### Alteraciones epigenéticas

En pacientes con leucemia linfóide aguda se han identificado mutaciones de genes que codifican reguladores epigenéticos y mutaciones de regiones no codificantes del genoma que son modificados por esos reguladores. Además, también se demostró que durante la recaída de la enfermedad hay incremento de mutaciones en los modificadores epigenéticos como *CREBBP* y *SETD2*.

De manera característica las células de leucemia muestran hipometilación global con hipermetilación selectiva de regiones ricas en CpG de los promotores de genes. La hipermetilación de los promotores

se relaciona con silenciamiento y la hipometilación con activación de la transcripción.

En la mayor parte de los subtipos de leucemia linfóide aguda se han encontrado mutaciones de los genes que codifican reguladores epigenéticos y proteínas modificadoras de cromatina. Además de las mutaciones de *PCR2* en leucemia linfóide aguda de precursores T tempranos, hay ejemplos notables de mutaciones presentes en la recaída de pacientes con leucemia linfóide aguda hipodiplode: *KDM6A* y *MLL2*, así como *WHSC1* en leucemia linfóide aguda *ETV6-RUNX1*.

#### Conclusión

La leucemia linfóide aguda es una enfermedad heterogénea en la que los avances en el entendimiento de la fisiopatogenia y anomalías genómicas han llevado a realizar mejoras en el tratamiento y la supervivencia de ciertos grupos de pacientes. Los sistemas de clasificación convencionales deben estar actualizados con base en nuevas variables emergentes, como marcadores genómicos y la existencia de enfermedad residual mínima positiva.

#### REFERENCIAS

1. Inaba H, Greaves M, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukemia. *Lancet* 2013;381:1943-55.
2. Bhojwani D, Yang JJ, Pui CH. Biology of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Clin North Am* 2015;62:47-60.
3. Boissel N, Auderc MF, Lhéritier V, et al. Should adolescents with acute lymphoblastic leukemia be treated as old children or young adults? Comparison of the French FRALLE-93 and LALA-94 trials. *J Clin Oncol* 2003;21:774-780.
4. Haiat S, Marjanovic Z, Laupsan S, et al. Outcome of 40 adults aged from 18 to 55 years with acute lymphoblastic leukemia treated with double-

delayed intensification pediatric protocol. *Leuk Res* 2011;35:66-72.

5. Rijnveld AW, van der Holt B, Daenen SM, et al. Intensified chemotherapy inspired by a pediatric regimen combined with allogeneic transplantation in adult patients with acute lymphoblastic leukemia of the age of 40. *Leukemia* 2011;25:1697-1703.
6. Szczepanski T. Why and how to quantify minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia? *Leukemia* 2007;21:622-6.
7. Campana D. Role of minimal residual disease monitoring in adult and pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2009;23:1083-1098.
8. Gökbuğet N, Kneba M, Thorsten Raff, et al. Adult patients with acute lymphoblastic leukemia and molecular failure display a poor prognosis and are candidates for stem cell transplantation and targeted therapies. *Blood* 2012;120:1868-1876.
9. Nguyen K, Devidas M, Cheng SC, et al. Children's Oncology Group. Factors influencing survival after relapse from acute lymphoblastic leukemia: a Children's Oncology Group study. *Leukemia* 2008;22:2142-2150.
10. Beldjord K, Chevret S, Asnafi V, et al. Oncogenetics and minimal residual disease are independent outcome predictors in adult patients with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2014; doi 10.1182/BLOOD-2014-01-547695.
11. Hunger SP, Mullighan CG. Redefining ALL classification: toward detecting high-risk ALL and implementing precision medicine. *Blood* 2015;125:3977-3987.

#### Tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda Ph+

Luis A Meillón-García

Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) Ph+ es un subtipo específico de LLA que se caracteriza por una alteración citogenética que consiste en la translocación recíproca entre los cromosomas 9 y 22 (cromoso-



ma Filadelfia) y, desde el punto de vista molecular, por el transcrito resultante al que se conoce como BCR-ABL 1.<sup>1</sup>

De acuerdo con el sitio donde ocurren los puntos de ruptura en el cromosoma 22, pueden producirse distintos tipos de proteínas que resultan de diferentes sitios de ruptura en el gen BCR. Una de ellas ocurre en el sitio de ruptura menor (m-bcr) y da origen a la p190-BCR-ABL1, que es la más frecuente en leucemia linfoblástica aguda, y la otra en la región mayor (M-bcr), que es más frecuente en la leucemia mieloide crónica.

Este tipo de leucemia linfoblástica aguda puede aparecer *de novo* o como consecuencia de la transformación de una leucemia mieloide crónica a una leucemia linfoblástica aguda. Aunque no es el propósito de esta revisión, cabe agregar que en estudios genómicos recientes se encontró una variante de leucemia linfoblástica aguda que, aunque no muestra el rearreglo BCR-ABL1, tiene alteraciones genéticas semejantes a la variante Ph+, y se le ha llamado leucemia linfoblástica aguda Ph-*like*, que conlleva mal pronóstico, pero que en algunas series ha tenido respuesta a los inhibidores de cinasas de tirosina (TKI) a pesar de no tener el transcrito referido.<sup>1,2</sup>

La frecuencia de la leucemia linfoblástica aguda Ph+ se incrementa a medida que aumenta la edad; es poco frecuente en la infancia y ocurre en 25 a 35% de los adultos. Se distinguía por ser un tipo de leucemia linfoblástica aguda de muy mal pronóstico. La tasa de remisión hematológica completa solía ser menor a la de otras variedades de leucemia linfoblástica aguda, pero sobre todo, la supervivencia libre de eventos a cinco años era inferior a 20%.<sup>3</sup> Por tal motivo, el trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) era la

mejor opción para estos pacientes, con la desventaja de que una proporción significativa de casos no eran elegibles por edad, estado de desempeño, comorbilidad o carecer de una fuente compatible de células progenitoras hematopoyéticas.

La introducción de los inhibidores de la cinasa de la tirosina (TKI, por sus siglas en inglés) cambió el pronóstico de este subgrupo de leucemia linfoblástica aguda. La eficacia y la poca toxicidad de esta clase de medicamentos permite obtener resultados alentadores, con tasas de remisión completa muy altas (97-100%) y supervivencia global a dos años de alrededor de 60%.<sup>4</sup> Los TKI se administran en combinación con quimioterapia de manera secuencial o simultánea y también como un tratamiento que reduce la enfermedad residual mínima previa al trasplante o posterior al mismo.

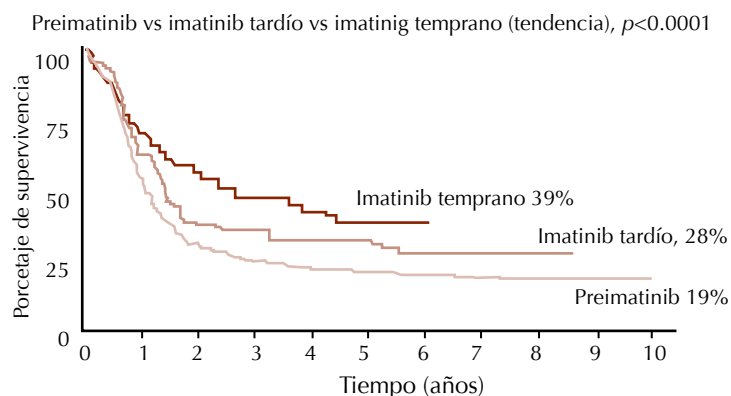
Es fundamental el diagnóstico oportuno para incorporar los TKI a la quimioterapia de manera temprana. Es necesario utilizar un estudio citogenético, ya sea cariotipo o mejor aún FISH para identificar la t(9;22). También puede usarse RT-PCR, no solamente para demostrar la existencia del transcrito BCR/ABL, sino también para identificar si se trata de un transcrito BCR/ABL que codifica para la proteína 190 (e2a2) o para la p210 (b2a2 o b3a2). Esta diferenciación es importante porque puede tener consecuencias en el pronóstico y en el seguimiento de la enfermedad residual mínima mediante un PCR cuantitativo específico (RQ-PCR).

#### **Inducción a la remisión**

La inclusión de los TKI en esta fase del tratamiento es el patrón de referencia actual. Se administran desde el inicio, diariamente y de manera simultánea con la quimioterapia porque de esta forma parece haber mejores resultados. En los primeros estudios, se administró imatinib,

pero en estudios más recientes se han prescrito TKI de segunda o incluso tercera generaciones, principalmente dasatinib o ponatinib, respectivamente. Al incorporar los TKI se han obtenido remisiones hematológicas completas en más de 90% de los casos, aunque las muertes por toxicidad siguen ocurriendo en alrededor de 5%. También se ha incrementado la supervivencia libre de enfermedad y la global (Figura 1).<sup>5</sup>

En los primeros estudios, el imatinib se administró a la dosis convencional de 400 mg con esquemas de quimioterapia habitual, como hiper-CVAD. Por ejemplo, en el grupo del MD Anderson,<sup>4</sup> estudiaron 400 mg de mesilato de imatinib los días 1-14 de cada ciclo A y B de hiper-CVAD. Se obtuvo 100% de remisión completa. La mitad de los pacientes se envió a TCPH, pero se obtuvo remisión molecular (PCR) en ambos grupos (con y sin trasplante de células progenitoras hematopoyéticas).<sup>4</sup> Hace poco se publicó el informe final luego de 13 años de seguimiento de este grupo.<sup>6</sup> Se incluyeron 54 pacientes: 39 (72%) con leucemia linfoblástica aguda Ph+ *de novo*, 6 (11%) resistentes a quimioterapia de inducción y 9 (17%) en remisión completa luego de un ciclo de quimioterapia (sin TKI). De los 45 pacientes tratados por enfermedad activa, 42 (93%) lograron la remisión completa; 19 pacientes (35%) están vivos y 18 en remisión completa. La supervivencia global a cinco años fue de 43%. Los predictores negativos para la supervivencia global en el grupo completo fueron: edad mayor de 60 años, transcrito p190 y enfermedad activa al enrolamiento; 16 pacientes (30%) recibieron trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. No hubo diferencia significativa en el promedio de la supervivencia global de los trasplantados vs no trasplantados, pero los que tenían



**Figura 1.** Supervivencia global de los pacientes con LLAPh+ previa a la administración de imatinib, comparada con la que incluye imatinib y de esta última cuando se administra de manera tardía vs temprana.

Tomada de la referencia 5

enfermedad residual mínima positiva al tercer mes tuvieron mejor duración de la remisión completa con el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. La toxicidad del esquema no fue diferente a la quimioterapia convencional, un paciente suspendió el tratamiento por toxicidad.

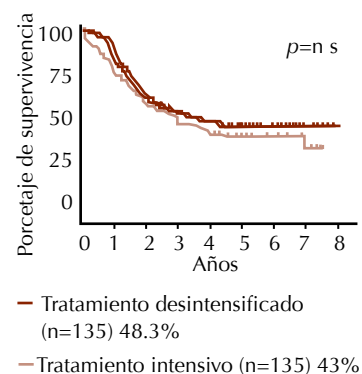
Diversos estudios europeos demostraron que el imatinib o dasatinib más quimioterapia proporciona remisiones hematológicas completas cercanas o iguales a 100% con supervivencia libre de eventos y global de aproximadamente 50 y 70%, respectivamente, con seguimiento de dos a tres años.<sup>7</sup>

También se han prescrito regímenes que reducen la intensidad de la quimioterapia con la finalidad de mejorar la supervivencia al reducir la mortalidad por toxicidad, lo que ha repercutido al reducir la mortalidad temprana, sobre todo en pacientes de edad avanzada. Las remisiones hematológicas completas son superiores a 90% en la mayor parte de los estudios, y aunque las muertes por toxicidad aún ocurren,

se reducen significativamente. Por ejemplo, el estudio italiano GIME-MA LAL 0201B<sup>8</sup> se diseñó para incluir pacientes ancianos (61-83 años) y todos los pacientes alcanzaron la remisión hematológica completa con imatinib (800 mg) más esteroides y profilaxis intratecal al sistema nervioso central; no hubo muertes y se alcanzó una reducción media de 2.9 y 2.0 logs en p190 y p210, respectivamente. La duración media de la remisión completa fue de 20 meses.

La atenuación de la quimioterapia también se estudió en pacientes jóvenes (menores de 60 años) y se prescribe un TKI (generalmente imatinib o dasatinib) con reducción de la dosis de algunos de los citotóxicos del esquema de quimioterapia original (Figura 2).<sup>6</sup> Un ejemplo de estas modificaciones es el estudio de Ribera y colaboradores (PETHEMA),<sup>9</sup> en el que se administró imatinib 600 mg/día en 29 pacientes con aplicaciones semanales de vincristina y daunorrubicina durante cuatro semanas con reducción de la dosis acumulada de vincristina

en 43%, daunorrubicina en 50% y se comparó con un esquema previo (histórico) sin reducción de estos medicamentos. La consolidación fue igual en ambos esquemas. Se demostró mejor supervivencia libre de eventos con la reducción de la quimioterapia y el incremento de imatinib. De 28 pacientes analizables se obtuvo remisión molecular (RM) en 11 (39%); 26 de 29 pacientes recibieron trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH), los efectos adversos preTCPH y la mortalidad asociada con el trasplante fueron menores en el esquema con reducción de las dosis de quimioterapia en la inducción. El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas se realizó con remisión molecular profunda en 75% de los pacientes. En una publicación más reciente, con diseño controlado con distribución al azar, que incluyó 268 pacientes, se redujo la intensidad de dosis de la fase A del esquema de hiper-CVAD (se eliminó la doxorubicina y se redujeron la vincristina



**Figura 2.** Supervivencia global del grupo con imatinib-hiper-CVAD habitual comparada con la del esquema con reducción de la intensidad de la quimioterapia.

Tomada de la referencia 10.

y la dexametasona) combinado con imatinib 400 mg/d los días 1-28 en el brazo 1 en comparación con el esquema habitual de la fase A hiper-CVAD más imatinib, misma dosis, durante 14 días del ciclo, brazo 2. Las fases B del ciclo fueron iguales en ambos brazos. El objetivo principal fue la remisión molecular mayor (RMM) ( $\leq 0.1\%$ ) en la médula ósea después del ciclo 2. Los pacientes en que se obtuvo esta meta, se eligieron para trasplante de células progenitoras hematopoyéticas alogénico y si éste no era posible, para autólogo. Los resultados fueron: la remisión completa fue más alta en el brazo de intensidad reducida (98 vs 91%) debido a que hubo menos muertes en inducción. La remisión molecular mayor fue semejante en ambos brazos (66 vs 64%). Con seguimiento promedio de 4.8 años, la supervivencia libre de eventos y la global a cinco años fueron de 37 y 45%, respectivamente. El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas alogénico tuvo mejor supervivencia libre de eventos (RM 0.69,  $p=0.036$ ) y global (RM 0.64,  $p=0.02$ ), aunque no hubo diferencia significativa al comparar el grupo con donador o sin donador. La mayoría de los pacientes del grupo sin donador recibió trasplante de células progenitoras hematopoyéticas autólogo si alcanzaba remisión molecular mayor a los dos meses. Este estudio aporta evidencia de que es posible reducir la dosis de la quimioterapia en la inducción y obtener resultados iguales o mejores en remisión hematológica completa y en supervivencia.<sup>10</sup>

En el Cuadro 1 se resumen los estudios que incluyen TKIs como tratamiento de primera línea, que incluyen otros TKIs, como nilotinib o ponatinib.

#### **Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas y la administración de TKIs postrasplante**

Algunos estudios sugieren que la

administración de TKI de primera línea combinados con quimioterapia durante todo el tratamiento puede lograr respuestas lo suficientemente favorables como para no requerir el trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas. Esto es importante porque en este tipo de trasplante la mortalidad no asociada con recaída es elevada (incluso de 25%) a pesar de prescribir regímenes de intensidad reducida.<sup>10</sup>

En los últimos cinco años, diversos grupos demostraron mejor supervivencia libre de eventos y global cuando se incorpora el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas y, hasta ahora, es el único tratamiento curativo demostrado a largo plazo para muchos pacientes.<sup>7</sup> Sin embargo, la evaluación de la enfermedad mínima residual puede definir si algunos grupos pudieran evitar el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas y mantener una supervivencia libre de eventos prolongada. Por ahora, se requiere definir los puntos de corte en cuantificación de enfermedad residual por PCR (con métodos estandarizados y armonizados) y los tiempos para evaluarlos (¿al final de la inducción, a los 3, 6, 12 meses?). Además de la enfermedad mínima residual se requieren más parámetros para seleccionar un grupo de riesgo favorable que pudiera evaluarse para omitir el trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas y la morbilidad y mortalidad derivadas. Algunos factores de riesgo favorable son: cuenta baja de leucocitos, obtención de remisión molecular mayor temprana (3 a 12 meses), el subtipo de ruptura bcr con p-190 y la ausencia de deleciones del gen IKZF1 (ikaroz), este último con poco efecto en la remisión hematológica completa, pero considerable en la reducción de la supervivencia libre de eventos y la global.<sup>10</sup>

En conclusión, la incorporación de los TKIs ha mejorado significativa-

mente el pronóstico de la leucemia linfocítica aguda Ph+ al permitir mejores remisiones hematológicas completas con menor toxicidad al reducir la intensidad de la quimioterapia de inducción sin afectar la eficacia. Incluso la administración de TKIs únicamente con esteroides en los pacientes de edad avanzada logra remisiones hematológicas completas elevadas y supervivencia satisfactoria con buena calidad de vida. No hay grandes diferencias en el tipo de TKI prescrito, la mayor información es con imatinib y dasatinib, este último induce una enfermedad mínima residual más sostenida, pero suele causar mayor toxicidad. Existe información creciente con nilotinib y ponatinib. Los TKIs son útiles como estrategia pretrasplante alogénico al obtener menor enfermedad mínima residual y con ello disminuir la recaída y aumentar la supervivencia global. Sin embargo, no existe una buena correlación entre el grado de reducción de la enfermedad mínima residual pretrasplante y el efecto del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en la supervivencia libre de eventos y la global. Asimismo, la administración de TKIs en el postrasplante demostró utilidad en reducir la recaída e incrementar la supervivencia libre de eventos y la global.<sup>11</sup>

La obtención de remisión molecular mayor, e incluso la desaparición de la enfermedad mínima residual (evaluada por PCR) con la combinación de TKIs y quimioterapia, plantea la posibilidad de la realización del autotrasplante como una modalidad reciente en estos pacientes y existen resultados alentadores, pero se requiere más información. Asimismo, cuando se logra una reducción profunda de la enfermedad mínima residual y no es posible realizar un trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas o las complicaciones del mismo

**Cuadro 1.** Resumen de los estudios que han administrado TKIs en primera línea para el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda Ph+

Ref. núm.	TKI administrado	Grupo de estudio	Núm. de pacientes	Edad media (límites)	CR, %	DFS	OS	Viabilidad del TACP, %
<b>Tratamiento intensificado</b>								
3	Im 600	GMALL	92	Alternante: 46 (21-65) Concurrente 41 (19-63)	95	58% a un año (RFS)	36% ciclos alternantes a 2 años; 43% ciclos concurrentes a 2 años	77
4*	Im 600	GRALL	30	65.8 (58-78)	72	51% a 18 meses	66% a un año	n.a.
5	Im 600	JALSG	80	45 (15-64)	96	30% a 4 años	76% a un año	61
6	Im 600	GRALL	45	45 (16-59)	96	39% a 5 años	65% a 18 meses	48
7	Im 400	PETHEMA	30	44 (8-62)	90	n.a.	30% a 4 años	53
8	Im 600	NIIG	59	45 (20.4-66)	92	44% a 4 años	38% a 5 años	57
9	Im 400	GRAAL	32	46 (18-60)	94	50% a 4 años (RFS)	53% a 3 años	50
10	Im 600/800	GRAAL	45	45 (16-59)	96	43% a 5 años	52% a 4 años	53
11	Im 600	NCRI/ECOG	175	42 (16-64)	92	60% a 2 años	38% a 4 años	46
12	Im 400/800	MDACC	45	51 (17-84)	93	n.a.	43% a 5 años	30
13	Das 50 MID o 100 al día	MDACC	35	52 (21-77)	94	n.a.	64% a 2 años	12
20	Nil 400 BID	KAALLWP	50	44.5 (18-71)	90	n.a.	66% a 2 años	66
21**	Nil 400 BID	EWALL	36	66 (55-85)	97	n.a.	n.a.	n.a.
22†	Pon. 45	MDACC	37	51 (27-75)	100	n.a.	86% a un año	24
<b>Tratamiento desintensificado, mg</b>								
14*	Im 800	GIMEMA	29	69 (61-83)	100	48% a un año	74% a un año	90%
18	Im 600	PETHEMA	29	38 (n.a.)	100	n.a.	63% a 2 años (EFS)	
15 <sup>y</sup>	Das 70 BID	GIMEMA	53	53.6 (23.8-76.5)	100	51% a 20 meses	69% a 20 meses	
16	Im 600	GIMEMA	49	45.9 (16.9-59.7)	100	50% a 36 meses	69% a 36 meses	
17 <sup>z</sup>	Das 140 al día	GIMEMA	60	41.9 (18.7-59.1)	97	50% a 24 meses	72% a 2 años	
19	Im 800	GRAAL	268	47 (18-59)	98	n.a.	45% a 5 años	63%

TACP: trasplante alogénico de células progenitoras.

Tomado de la referencia 7.

son inaceptables, el tratamiento con TKIs a largo plazo como terapia de mantenimiento debe evaluarse y con ello la importancia de un seguimiento cuidadoso para vigilar el apego y para documentar o tratar oportunamente cualquier evidencia de incremento en la enfermedad mínima residual.

## REFERENCIAS

- Jabbour E, O'Brien S, Konopleva M, Kantarjian H. New insights into the pathophysiology and treatment of adult acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* 2015;121:2517-2528.
- Roberts KG, Li Y, Payne-Turner D, et al. Targetable kinase activating lesions in Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2014;371:1005-1015.
- Pullarkat V, Slovak ML, Kopecky KJ, Forman SJ, Appelbaum FR. Impact of cytogenetics on the outcome of adult acute lymphoblastic leukemia: results of Southwest Oncology Group 9400 study. *Blood* 2008;111:2563-2572.
- Thomas D, Faderl S, Cortes J, et al. Treatment of Philadelphia chromosome-positive acute lymphocytic leukemia with hyper-CVAD and imatinib mesylate. *Blood* 2004;103:4396-4407.
- Fielding AK, Rowe JM, Buck G, et al. UKALLXII/ECOG2993: addition of imatinib to a standard treatment regimen enhances long-term outcomes in Philadelphia positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2014;123:843-850.
- Daver N, Thomas D, Ravandi F, et al. Final report of a phase II study of imatinib mesylate with hyper-CVAD for the front-line treatment of adult patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2015;100:653-661.
- Chiaretti S, Foa R. Management of adult Ph-positive acute lymphoblastic leukemia. *ASH Education Book*, 2015.
- Vignetti M, Fazi P, Cimino G, et al. Imatinib plus steroids induces

- complete remissions and prolonged survival in elderly Philadelphia chromosome-positive patients with acute lymphoblastic leukemia without additional chemotherapy: results of the Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto (GIMEMA) LAL0201-B protocol. *Blood* 2007;109:3676-3678.
9. Ribera JM, García O, Montesinos P, et al. Treatment of young patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia using increased dose of imatinib and deintensified chemotherapy before allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2012;159:78-81.
  10. Chalandon Y, Thomas X, Hayette S, et al. Randomized study of reduced-intensity chemotherapy combined with imatinib in adults with Ph-positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2015;125:3711-3719.
  11. Brissot E, Labopin M, Beckers MM, et al. Tyrosine kinase inhibitors improve long-term outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult patients with Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2015;100:392-399.

## Cáncer y trombosis

*Gabriela Cesarman-Maus*

Instituto Nacional de Cancerología, Ciudad de México

### Introducción

La última década ha sido testigo de una explosión de información acerca del tema de trombosis, principalmente venosa, pero también arterial, en individuos con cáncer. Es un tema que se discute en congresos de distintas especialidades y en conferencias especializadas en el tema como la 8ª Conferencia Internacional de Problemas de Trombosis y Hemostasia en Cáncer, que se presentará en agosto de 2016 en Bérnago, Italia. En este texto se discute solamente la trombosis venosa profunda. Son múltiples las preguntas clínicas que se han contestado y otras que aún están

pendientes de respuesta. Por ejemplo, se sabe que el riesgo de detectar cáncer se eleva en un individuo aparentemente sano que padece trombosis espontánea, pero la respuesta de en quién buscar un tumor y cuáles son los estudios de laboratorio e imagen necesarios está por definirse. Se conocen muchos de los factores de riesgo de trombosis en pacientes con cáncer (actividad procoagulante de tumores específicos, quimioterapia, terapia biológica, radioterapia, cirugía, catéteres venosos centrales), además de los factores de riesgo no precisamente relacionados con cáncer (inmovilización prolongada, comorbilidades, edad avanzada, entre otros). Existen múltiples guías con información de profilaxis primaria y secundaria ideal y quién la necesita, qué anticoagulantes prescribir para el tratamiento, a qué dosis, por cuánto tiempo y cómo personalizar el tratamiento. Se han reportado escalas y estudios de laboratorio para determinar el riesgo de retrombosis y el de hemorragia para cada individuo en particular y qué hacer cuando por estudios de imagen se detecta una trombosis asintomática. También existen aplicaciones en línea gratuitas publicadas por diferentes países para calcular los riesgos de trombosis (los sistemas de Caprini o Wells, y Thrombosis Canada (<http://thrombosiscanada.ca>), éstos indican la necesidad de profilaxis y sugieren el tipo de anticoagulación con base en guías actualizadas.

Otra área particularmente interesante corresponde a las preguntas acerca de la fisiopatología de la trombosis y su relación con las neoplasias. Cada vez se entienden mejor los mecanismos moleculares por los que una neoplasia induce la activación de la coagulación y aumenta el

riesgo de trombosis y, al mismo tiempo, cómo estos mismos mecanismos están asociados con agresividad tumoral y mayor riesgo de metástasis. La trombosis venosa espontánea asociada con tumores sólidos es un indicador de mal pronóstico, pero no lo es si se asocia con linfomas, mielomas o con catéteres venosos centrales.<sup>1-3</sup> Múltiples trabajos describen las proteínas de membrana o solubles, los receptores y oncomicro-ARNs expresados en células tumorales o por células de microambiente tumoral (o en microvesículas-micropartículas circulantes derivadas de estas células) que promueven el estado procoagulante y prometastático. Se han propuesto diversos tratamientos dirigidos a estas moléculas para bloquear los eventos trombóticos y la progresión tumoral.<sup>4</sup>

Un problema en el tratamiento de personas con cáncer y trombosis es que no se trata de un solo padecimiento, los tumores, sus complicaciones, la posibilidad de curación, el grado de deterioro, los órganos afectados por actividad tumoral y los medicamentos prescritos son muy variados, así como son diversos los tipos de trombosis y los sitios que afectan. Las personas con cáncer pueden estar básicamente sanas, con altas posibilidades de curación y permanecer ambulatorios con vidas poco modificadas por una trombosis inconsecuente o tener diferentes grados de afectación por la trombosis y por la neoplasia de fondo, ambas potencialmente mortales. Los pacientes pueden estar expuestos a cirugías simples curativas o a grandes y cruentas cirugías, a radiación, a catéteres venosos centrales de permanencia prolongada, y pueden tener insuficiencia hepática o renal por actividad tumoral o por toxicidad



dad, esto agregado a múltiples comorbilidades. La situación de cada paciente, además, fluctúa constantemente, en ocasiones con periodos que aumentan el riesgo de retrombosis y de hemorragia; por ejemplo, por trombocitopenia asociada con quimioterapia o metástasis al sistema nervioso central por tumores con alto riesgo de hemorragia espontánea (melanoma, coriocarcinoma, carcinoma tiroideo y carcinoma de células renales).<sup>5</sup> La reducción en la ingestión de alimentos durante los días de quimioterapia o la insuficiencia hepática por metástasis requieren reducción de dosis de algunos anticoagulantes y seguimiento continuo. La preocupación constante es cómo mantener una protección adecuada evitando retrombosis, hemorragia o ambas. Queda claro que el tratamiento de individuos con trombosis venosa debe ser personalizado e integral. Alrededor de 10% de los individuos con cáncer morirán por tromboembolia pulmonar (TEP).<sup>1</sup> Cerca de la mitad de los pacientes con trombosis venosa profunda proximal padecen tromboembolia pulmonar, pero sólo una tercera parte de éstas son sintomáticas. La incidencia de trombosis es más elevada en los primeros tres meses a partir del diagnóstico de cáncer y vuelve a elevarse si existe recaída de la enfermedad y en pacientes con enfermedad avanzada. En poblaciones heterogéneas de individuos con cáncer la prevalencia de trombosis venosa en los primeros meses varía entre 2 y 6%, pero puede ser mucho mayor en individuos con tratamiento protrombótico, como en casos de mieloma múltiple tratado con Inmunomoduladores, sobre todo cuando se asocian con antracíclicos o a dosis altas de dexametasona (aproximadamente 30%), o en pacientes con

neoplasias agresivas como cáncer de páncreas.<sup>6</sup> La incidencia de trombosis venosa en individuos con cáncer ha aumentado en los últimos años, debido a la utilización de fármacos trombogénicos prescritos como antineoplásicos.

#### **Algunas observaciones acerca de trombosis venosa profunda en personas con cáncer**

En pacientes en los que los signos de trombosis (aumento de volumen de tejidos blandos de una extremidad) no se resuelven por completo en cuatro a seis semanas, es importante descartar compresión vascular extrínseca por actividad tumoral.

La duración de la anticoagulación en un individuo con trombosis asociada con cáncer depende de la razón por la que está recibiendo anticoagulantes. Se trata durante tres meses si la trombosis estuvo en relación con un factor de riesgo transitorio ya resuelto, por ejemplo intervención quirúrgica, infección o trombosis de un catéter venoso central ya retirado o inmovilización temporal. En el otro extremo están los pacientes que requieren anticoagulación prolongada por uno o varios factores no resueltos, por ejemplo actividad tumoral persistente, compresión vascular extrínseca por tumor y administración de medicamentos protrombóticos.

Una pregunta difícil es cuándo suspender los anticoagulantes en paciente con actividad tumoral persistente. No existe información en pacientes con alto riesgo de retrombosis; sin embargo, en pacientes considerados en riesgo bajo la incidencia de retrombosis es de aproximadamente 20%. En cuanto a los individuos que se consideran curados, al suspender los anticoagulantes la incidencia de retrombosis es de 3.2%, de los cuales 75% retrombosan en asociación con recaída tumoral. Por

lo que no es necesario continuar la anticoagulación en pacientes considerados curados y es importante buscar recaída del tumor si el paciente padece trombosis durante el seguimiento.<sup>7</sup>

A pesar del alto riesgo de trombosis asociado con catéteres venosos centrales (CVC) la profilaxis no ha demostrado ser eficaz. Las guías internacionales no recomiendan la profilaxis. Es posible que en individuos con mayor riesgo de trombosis la profilaxis sea útil.<sup>8</sup> No es necesario retirar los catéteres con trombosis que siguen siendo funcionales si el paciente lo necesita para continuar la quimioterapia. Se sugiere continuar la anticoagulación mientras esté colocado el catéter y hasta cuatro a seis semanas después de retirarlo. La profilaxis se recomienda para la mayoría de los pacientes con cáncer que están hospitalizados y en los que se vaya a realizar una intervención quirúrgica mayor, excepto en los pacientes con riesgo alto de hemorragia. Sin embargo, no se recomienda para la mayoría de los pacientes ambulatorios. La profilaxis con heparinas de bajo peso molecular no evita por completo la trombosis venosa, únicamente la reduce en aproximadamente a la mitad. Asimismo, la administración profiláctica de heparinas de bajo peso molecular se asocia con hemorragia (cerca de 1% de los pacientes). Esto hace que las heparinas de bajo peso molecular sean una opción poco eficaz para profilaxis cuando se administran en una población de pacientes con cáncer con bajo riesgo de trombosis.<sup>6</sup>

En cuanto al tratamiento de un paciente con trombosis, con base en los resultados del estudio CLOT (NEJM 2003), las guías sugieren dar heparina de bajo peso molecular durante tres a seis meses en lugar de cinco a diez días de

heparinas de bajo peso molecular y continuar con inhibidores de vitamina K. Sin embargo, el nuevo estudio CATCH (JAMA 2015) no confirmó que existiera ventaja de un tratamiento sobre otro, por lo que se espera que en las siguientes guías se reporte la equivalencia de ambas opciones. El tratamiento con inhibidores directos orales no está indicado para pacientes con cáncer hasta que se disponga de los resultados de los estudios fase III que se realizan. En condiciones excepcionales o como parte de un estudio sí pueden prescribirse.<sup>6</sup> Por último, no se recomienda restringir alimentos que contienen vitamina K en pacientes que toman antagonistas de la vitamina K (acenocoumarina o warfarina). No existe evidencia de que retirar los alimentos ricos en vitamina K mejore el control del INR. En cambio, evidencia prospectiva demuestra que la anticoagulación es más estable en pacientes con ingestión moderada a alta de vitamina K.<sup>9</sup> Tampoco se recomienda reposo absoluto en pacientes con trombosis venosa profunda. En individuos que no tienen que permanecer en cama por alguna otra indicación, se recomienda la deambulación temprana.<sup>10</sup>

**REFERENCIAS**

1. Buller HR, Van Doornaal FF, Van Sluis GL, Kamphuisen W. Cancer and thrombosis: from molecular mechanisms to clinical presentations. *J Thromb Haemost* 2007;5:246-254.
2. Falanga A, Marchetti M, Russo L. The mechanisms of cancer-associated thrombosis. *Thromb Res* 2015;135:S8-S11.
3. Cesarman-Maus G, Braggio E, Lome-Maldonado C, et al. Absence of tissue factor is characteristic of lymphoid malignancies of both T- and B-cell origin. *Thromb Res* 2014;133:606-609.
4. Fanini F, Fabri M. MicroRNAs and cancer resistance: A new molecular

- plot. *Clin Pharmacol Ther* 2016 (Epub ahead of print)
5. Gerber DE, Grossman SA, Streiff MB. Management of venous thromboembolism in patients with primary and metastatic brain tumors. *J Clin Oncol* 2006;24:1310-1318.
6. Lyman GH, Bohlke K, Korana AA, et al. Venous thromboembolism prophylaxis and treatment in patients with cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update 2014. *J Clin Oncol* 2015;33:654.
7. van der Hulle T, den Exter PL, van den Hoven P, et al. Cohort study on the management of cancer-associated venous thromboembolism aimed at the safety of stopping anticoagulant therapy in patients cured from cancer. *Chest* 2016. pii: S0012-3692(15)00164-6. doi: 10.1016/j.chest.2015.10.069. (Epub ahead of print).
8. Zangari M, Tricot G, Polavaram L, Zhan F, et al. Survival effect of venous thromboembolism in patients with multiple myeloma treated with lenalidomide and high-dose dexamethasone. *J Clin Oncol* 2010;28:132-135.
9. Sconce E, Khan T, Mason J, Noble F, et al. Patients with unstable control have a poorer dietary intake of vitamin K compared to patients with stable control of anticoagulation. *Thromb Haemost* 2005;93:872-875.
10. Aissaoui N, Martins E, Mouly S, Weber S, Meune C. A meta-analysis of bed rest *versus* early ambulation in the management of pulmonary embolism, deep vein thrombosis or both. *Int J Cardiol* 2009;137:37-41.

**Pathogen inactivation: a new paradigm for preventing transfusion-transmitted infections**

*Jeffrey McCullough*

Department of Laboratory Medicine & Pathology, University of Minnesota

**Introduction**

The approach to reducing transfusion transmissible diseases has nearly eliminated post transfusion HIV and

hepatitis. However, this approach:

1. Applies only to known pathogens and transfusion-transmitted infections.
  2. Does not even address or prevent all currently known transfusion-transmitted infections.
  3. Is reactive to the occurrence of new infectious agents and thus accepts that some patients will be harmed before steps can be taken to minimize transmission of the agent.
  4. Is not adequate to detect and/or prevent transfusion of bacterially contaminated products.
  5. Temporarily or permanently defers donors who do not pose a risk to patients because of the impreciseness of the present screening tests or deferral criteria.
- Pathogen inactivation (PI) is a proactive approach that can alleviate the shortcomings listed above and also manage new infectious agents.

**Pathogen inactivation (PI) methods**

PI methods are available for plasma, platelets, and red cells.

The solvent detergent method is used to treat pools of about 2,500 donors that are then packaged into units similar to fresh frozen plasma (FFP). The method is effective only for viruses with a lipid envelop such as HIV, HBV, and HCV but does not activate non-envelop viruses such as HAV or parvovirus. A product, octaplas, is commercially available.

Methylene blue, when added to plasma and exposed to visible light, can inactivate most viruses and bacteria by generation of reactive oxygen species. Methylene blue is not effective against intracellular viruses and so the blood component must undergo leukoreduction as part of the methylene blue PI. The treated plasma can then be frozen and used much the same as FFP. There is some loss of

plasma coagulation factors in the methylene blue treatment process, but methylene blue plasma has been widely used in Europe.

Three other methods have been developed that target and damage DNA or RNA in order to prevent organisms from reproducing. Thus, any pathogens contaminating the blood components may be inactivated. Since none of the standard components (red cells, platelets, or plasma) require nucleic acid replication for successful *in vivo* effect, this PI approach should not interfere with the effectiveness of the blood component.

Terumo Corporation has used vitamin B<sub>2</sub> or riboflavin and UV light for red cells, platelets, and plasma. Riboflavin damages DNA and RNA by intercalating with nucleic acids and when exposed to 265-370 nm UV light photolysis of the compound induces guanine oxidation resulting in single strand breaks.

Cerus Corporation has used the psoralen compound Amotosalen and UV light. Amotosalen acts by selectively binding to nucleic acids and lipids but not proteins, intercalates into the helical regions of DNA or RNA, and forms fixed cross links upon exposure to UV light of wavelength 320-400. The crosslinks are so extensive that this prevents separation of the strands of nucleic acids which in turn prevents nucleic acid replication. Amotosalen also inhibits protein synthesis such as cytokines and thus may also reduce the likelihood of platelet transfusion reactions. Because hemoglobin absorbs light at this wavelength, the Amotosalen cannot be used for treatment of red cells. The compound used by Cerus for PI of red cells is a three part compound (S-303) with an acridine portion that targets the nucleic acid, a reactive ester that links this to the bifunctional alkylator that damages the nucleic acids

by crosslinking the DNA or RNA.

Thus, two methods are available for PI of platelets, plasma, and red cells. A third method using only UVC light is under development.

#### Toxicity of compounds used for pathogen inactivation

Extensive toxicity studies have been carried out with satisfactory results.

#### Pathogens inactivated

All three of these compounds inactivate pathogens very effectively. Amotosalen inactivates 10<sup>4</sup> to 10<sup>6</sup> envelop and non-envelop viruses, gram negative and gram positive bacteria, and protozoa (Table 1). Although HAV and prions are not inactivated by Amotosalen, HAV is not usually considered a risk from transfusion and the magnitude of the risk of transfusion-transmitted prion disease is not known. Parvovirus and other non-envelop viruses are inactivated at least at the 10<sup>5</sup> level. Riboflavin inactivates 10<sup>4</sup> to 10<sup>6</sup> of intra and extracellular HIV, West Nile virus, porcine parvovirus, *S. epidermidis*, *E. coli*, vesicular stomatitis virus, *S. aureus*, *B. cereus* and *K. pneumoniae*. The S-303 used for PI of red cells also has a very robust PI profile. Since most commercial assays detect both full-length and incomplete and thus non-infectious particles, it is difficult to determine the true level of infectivity in apparently health blood donors. The extent to which these PI processes are in excess of the levels of these pathogens that would be expected in an apparently healthy blood donor who would have passed the standard medical/health evaluation is difficult to conclude. However, it appears that these three compounds are very effective inactivating transfusion-transmitted pathogens including those for which no prevention strategy is currently in place.

#### Graft versus host disease (GVHD)

An additional benefit from the PI technology is the potential to eliminate the risk of transfusion-

**Table 1.** Inactivation of pathogens in platelet concentrates after photochemical treatment with amotosalen and UVA light\*

Pathogen	Log-reduction in organisms
<b>Enveloped viruses</b>	
HIV (cell-free)	>6.2
HIV (Cell-associated)	>6.1
CMV	>5.9
HBV	>5.5
HCV	>4.5
DHBV	>6.2
BVDV	>6.0
HTLV I/II	4.7/5.1
WNV	> 6.0
<b>Non-enveloped viruses</b>	
Blue tongue	6.1-6.4
Parvovirus B19	4.0-4.9
<b>Gram-negative bacteria</b>	
<i>E. coli</i>	>6.4
<i>S. marcescens</i>	>6.7
<i>K. pneumoniae</i>	>5.6
<i>P. aeruginosa</i>	4.5
<i>S. choleraesuis</i>	>6.2
<i>Y. enterocolitica</i>	>5.9
<i>E. cloacae</i>	5.9
<b>Gram-positive bacteria</b>	
<i>S. aureus</i>	6.6
<i>S. epidermidis</i>	>6.6
<i>S. pyogenes</i>	>6.8
<i>L. monocytogenes</i>	>6.3
<i>C. minutissimum</i>	>6.3
<i>B. cereus</i>	>6.0
<b>Gram-positive anaerobic bacteria</b>	
<i>Lactobacillus species</i>	>6.9
<i>P. acnes</i>	>6.7
<i>C. perfringens</i>	>7.0
<i>B. adolescentis</i>	> 6.5
<b>Protozoa</b>	
<i>T. cruzi</i>	>5.3
<i>P. falciparum</i>	>7.0
<i>L. mexicana</i>	>5.2

\* Reproduced from McCullough J, Vesole DH, Benjamin RJ, et al. Therapeutic efficacy and safety of platelets treated with a photochemical process for pathogen inactivation: The SPRINT trial. *Blood* 2004;104:1534-1541.

transmitted GVHD. While the damage to or prevention of replication of nucleic acids is not damaging to the cells or proteins of interest for transfusion therapy, the process also prevents replication of lymphocytes in the blood components. Thus, transfused PI blood components should not cause transfusion-related GVHD and this has been established in animal studies and extensive clinical experience.

#### ***In vitro* and animal studies of cell function and pathogen inactivation**

##### *Platelets*

Platelets treated with Amotosalen have normal results of *in vitro* platelet function studies including biochemistry, aggregation, morphology/hypotonic shock response, and surface markers. Amotosalen-treated platelets were as hemostatically effective as normal control platelets in a thrombocytopenic rabbit model. Riboflavin-treated platelets also have essentially normal *in vitro* functional properties.

##### *Plasma*

Coagulation factor levels and routine laboratory tests of hemostasis in plasma PI with Amotosalen are not different from untreated plasma. Plasma treated with riboflavin for PI also has essentially normal levels of plasma coagulation factors.

##### *Red cells*

Red cells treated with the S-303 have normal *in vivo* test results including morphology, osmotic fragility, potassium efflux, hemolysis during storage, ATP levels, DPG levels, oxygen affinity, and RBC antigen strength. The post transfusion survival of S-303-treated RBCs was normal in mice and dogs, but there appeared to be a slight but not statistically significant decreased recovery.

Riboflavin treated red cells have *in vitro* characteristics that are similar to control red cells from the same donors. After 21 days of storage in

additive solution, the *in vitro* characteristics are similar to untreated red cells stored for 42 days in adsol. Thus, while the storage time is less than current untreated red cells, the characteristics of red cells at the end of their storage are similar to current red cells.

#### ***In vivo* phase I studies**

##### *Platelets*

Amotosalen-treated platelets given to normal research subjects have a slightly decreased recovery and survival. In 13 thrombocytopenic patients, Amotosalen-treated platelets had a slightly decreased post transfusion recovery but were equally as effective as control platelets in correcting the bleeding time and time to the next transfusion. Riboflavin-treated platelets have shown normal *in vivo* recovery and survival in studies of radiolabeled cells in normal research subjects.

##### *Plasma*

Autologous FFP PI with Amotosalen was equally effective as autologous untreated FFP in correcting the PT and PTT and elevating Factor II, VII, IX, and X in normal subjects treated with warfarin and then transfused with their own, either untreated or PI FFP. *In vitro* data for riboflavin plasma has not been published.

##### *Red cells*

Red cells subjected to PI by the S-303 have a slightly decreased autologous *in vivo* recovery and normal survival.

#### **Clinical trials of pathogen inactivated components**

##### *Platelets*

A prospectively randomized controlled trial of S-303 PI buffy coat versus control platelets in 103 patients showed that both platelet products were equally effective in increasing the post transfusion platelet count and there were no differences in transfusion reactions or adverse events. A prospectively randomized controlled trial of Amotosalen PI apheresis platelets versus

untreated apheresis platelets in 645 patients showed equivalence of both products in control and prevention of bleeding and fewer transfusion reactions in the patients receiving PI platelets. Patients in this study who received the PI platelets had significantly lower post transfusion CCIs and received more transfusions. However, these patients also received lower doses of platelets due to processing losses. When those patients who received doses of PI similar to the controls were analyzed, the post transfusion count increments were similar to controls, thus indicating that much of the observed difference was due to a difference in dose. This observation has been confirmed on a large-scale in Europe where use of PI has not led to an increased number of platelet transfusions. Both Amotosalen and riboflavin-treated platelets are now widely used in Europe. Amotosalen-treated platelets are now approved for use in the United States (US) and implementation is beginning. A phase III trial of the riboflavin platelet product was planned for the US but is not proceeding.

##### *Plasma*

A phase III clinical trial of Amotosalen PI FFP showed that improvements in hemostasis and laboratory test results were equal and not significantly different in 121 patients with acquired coagulopathies primarily due to liver disease. There were no differences in the use of blood components or in bleeding complications indicating that PI FFP was as effective as untreated FFP for the treatment of acquired coagulopathy. PI FFP has also been equally as effective as untreated FFP in patients with congenital coagulopathies and for replacement during plasma exchange for TTP. This plasma product is now approved for use in the US. The solvent detergent plasma product is now also approved for use in the US

so there are two PI plasma products.  
*Red cells*

A phase III trial of red cells PI with the S-303 has been reported. This trial was halted prematurely due to the development of red cell antibodies in patients who were receiving multiple transfusions of similar PI red cells but in a different trial. The reported trial involved 223 patients undergoing cardiovascular surgery and even though the trial was halted prematurely, statistical analysis revealed that the endpoint had been met. There were no significant differences in a combined endpoint involving cardiac and renal function. Thus, the trial can be considered successful although that specific PI method has now been modified due to antibody formation in multiply transfused patients. Red cells treated with this modified method are undergoing clinical trials in Europe and a trial is planned for the US.

A method using riboflavin to treat whole blood has also undergone successful trials and recently received the CE mark allowing its initial adoption in Europe. A clinical trial is planned for the US but has not started.

#### **Discussion**

PI is a proactive approach to transfusion safety. The benefits of PI must be considered in relation to new steps that could have been avoided, existing known transfusion-transmitted diseases, and expected new threats to the safety of the blood supply. This body of work represents very substantial progress and PI has arrived at realistic point. PI is a paradigm shift. The cost of PI will certainly be an issue. It is not the scope of this report to deal with cost analysis. However, PI might not be as large an increased cost as might be expected. In addition to elimination of the patient care costs of the diseases transmitted, transmission

of agents not now tested should be prevented and those patients spared new infections. The countless hours spent in developing strategies to deal with new agents would be avoided and the huge costs of testing and loss of donors due to false positive screening tests would be eliminated. In addition, irradiation of blood products, testing for bacterial contamination of platelets, testing for CMV, and possibly West Nile virus could probably be eliminated and seven day storage of platelets could be reconsidered. Because plasma is replaced with a platelet additive solution during the PI process, more plasma is available for fractionation, thus providing some revenue. Because plasma is removed and because PI stops cytokine synthesis, transfusion reactions to platelets are decreased, thus improving patient care and reducing the costs of managing these reactions. It seems unlikely that current transmissible disease testing would be eliminated, but potential future cost of screening for *T. cruzi*, malaria, and leishmania could probably be avoided and we would be prepared if an epidemic such as SARS, chikungunya, dengue, zika, or avian flu should occur.

#### **Conclusions**

PI with solvent detergent has been used in the manufacture of plasma derivatives for years and a PI frozen plasma product is available in Europe and the US. PI plasma (methylene blue) has been used in Europe for some time and a different FFP product (Amotosalen) is now approved in the US. Substantial progress has been made in the development of PI platelets. Safety profiles for the additives in these PI methods are good. Two platelet products are available in Europe and have been transfused to thousands of patients. One of these products is now approved for use in the US and implementation

is underway. A Phase III trial of PI red blood cell products was halted prematurely due to antibody formation in some patients. However, an adequate number of patients had been entered into the trial before it was closed to demonstrate clinical effectiveness of the PI red cell product. That method has been modified to eliminate the antibody problem and major clinical trials are underway in Europe.

In vitro and in vivo data show that most of the PI blood products are slightly compromised compared to untreated products. Most of our traditional methods of evaluating blood products have involved in vitro analyses and studies of in vivo survival in a small number of healthy research subjects and relatively stable patients. In contrast, studies of PI blood products have looked at the most important issue which is clinical effectiveness. Platelet studies evaluated prevention or control of bleeding, not just platelet counts. Red cell studies looked at clinical outcome, not just the change in hemoglobin. Thus, at least to some extent the information available about PI products is better than that on which we have based existing transfusion therapy. While to some extent these new PI products are not the same as those we have used for years but they do not have to be the same. What they have to be is effective for patients. The shortcomings of our present paradigm and the future of transfusion safety for patients mandate that these new blood products receive careful consideration for adoption.

#### **REFERENCES**

1. Wagner SJ. Virus inactivation in blood components by photoactive phenothiazine dyes. *Transf Med Rev* 2002;16:61-66.
2. Lin L, Hanson CV, Alter HJ, et al. Inactivation of viruses in platelet



- concentrates by photochemical treatment with Amotosalen and long-wavelength ultraviolet light. *Transfusion* 2005;45:580-590.
3. Ruane PH, Edrich R, Gamp D, Keil SD, Leonard RL, Goodrich RP. Photochemical inactivation of selected viruses and bacteria in platelet concentrates using riboflavin and light. *Transfusion* 2004;44:877-885.
  4. Goodrich RP, Li J, Edrich R, Seghatchian J. The mirasol PRT system for pathogen reduction of platelets and Plasma: an overview of current status and future trends. *Transfusion and Apheresis Science* 2006;35:5-17.
  5. Corash L, Lin L. Novel processes for inactivation of leukocytes to prevent transfusion-associated graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 2004;33:1-7.
  6. Knutson F, Alfonso R, Dupuis K, et al. Photochemical inactivation of bacteria and HIV in buffy-coat-derived platelet concentrates under conditions that preserve in vitro platelet function. *Vox Sang* 2000;78:209-216.
  7. Singh Y, Sawyer LS, Pinkoski LS, et al. Photochemical treatment of plasma with Amotosalen and long-wavelength ultraviolet light inactivates pathogens while retaining coagulation function. *Transfusion* 2006;46:1168-1177.
  8. Slichter SJ, Raife TJ, Davis K, et al. Platelets photochemically treated with Amotosalen HCl and ultraviolet A light correct prolonged bleeding times in patients with thrombocytopenia. *Transfusion* 2006;46:731-740.
  9. McCullough J, Vesole DH, Benjamin RJ, et al. Therapeutic efficacy and safety of platelets treated with a photochemical process for pathogen inactivation: the SPRINT Trial. *Blood* 2004;104:1534-1541.
  10. Mintz PD, Bass NM, Petz LD, et al. Photochemically treated fresh frozen plasma for transfusion of patients with acquired coagulopathy of liver disease. *Blood* 2006;107:3753-3760.
  11. Benjamin RJ, McCullough J, Mintz PD, Snyder E, Spotnitz WD, Rizzo RJ, Wages D, Lin JS, Wood L, Corash L, Conlan MG. Therapeutic efficacy and safety of red blood cells treated with a chemical process (S-303) for pathogen inactivation: a Phase III clinical trial in cardiac surgery patients. *Transfusion* 2005;45:1730-1749.