

Protocolo de manejo terapéutico en hemorragia obstétrica

Efreen Horacio Montaña-Figueroa,
Alejandra García-Flores

UMAE Hospital de Ginecología y Obstetricia 3, Centro Médico Nacional La Raza, IMSS, Ciudad de México.

La hemorragia obstétrica es causa frecuente de complicación al final del embarazo y desafortunadamente en muchas ocasiones con desenlace fatal. En México, como en otros países de Latinoamérica, representa la segunda causa de muerte después de la enfermedad hipertensiva del embarazo. Por ello, la OMS tiene entre sus objetivos la reducción de más de 70% en la mortalidad en este grupo de mujeres, meta que ha de cumplirse para el año 2030.¹ La hemorragia obstétrica puede, en un alto porcentaje de casos, ser prevenible o al menos es posible reconocer los factores de riesgo, como el antecedente de hemorragia obstétrica, feto macrosómico, embarazo múltiple, falta de progresión del segundo periodo del trabajo de parto (expulsión), placenta retenida o anomalías en su inserción, episiotomía y administración de anestesia general y de esta forma reconocer a las pacientes en riesgo alto para tener disponible el equipo médico multidisciplinario que incluya al encargado del banco de sangre. De especial importancia como factor de riesgo es la concentración sérica de fibrinógeno menor a 2 g/dL antes del parto.²

Por definición, la hemorragia obstétrica es el sangrado mayor a 500 mL en parto vaginal o mayor de 1000 mL en parto por cesárea. Una hemorragia masiva es aquella con pérdidas mayores a 2500 mL o disminución de 4 g o más de hemoglobina y que requiere en la mayoría de los casos intervención quirúrgica mayor, como la histerectomía y que lleva, además, a coagulopatía causante de la muerte en 50% de las pacientes.³ El cálculo visual de la cantidad de sangrado es

subjetivo y lleva muchas veces al inicio tardío en las medidas médicas de soporte puesto que en la mayoría de los casos la cuantificación estimada es por debajo de lo real, tomando en cuenta, además, que los cambios hemodinámicos fisiológicos al final del embarazo provocan que la mujer no muestre datos clínicos tempranos de choque hipovolémico. Para ello la regla de los 30 es de utilidad excepcional e incluye: disminución de la presión sistólica en 30 mmHg, incremento de la frecuencia cardíaca más de 30 por minuto durante el sangrado, disminución de 3 g/dL de hemoglobina y 30% del hematócrito, cualquiera de estos cambios supone 30% de pérdida sanguínea del volumen total.⁴ El reconocimiento temprano de las manifestaciones clínicas de descompensación hemodinámica permite iniciar la terapia de reanimación de forma oportuna a fin de evitar la acidosis metabólica que acarrea una serie de complicaciones principalmente hemostáticas altamente mortales, es por ello que los primeros sesenta minutos desde el inicio del sangrado o la llamada hora dorada son de capital importancia y de ello depende el éxito pues de 90% de supervivencia a los diez minutos, ésta se reduce a 5 a 10% al cabo de sesenta minutos. El objetivo es evitar la coagulación intravascular diseminada que ocurre una vez que se reduce 80% del volumen sanguíneo, aunque ésta puede ocurrir antes de existir otra complicación obstétrica concomitante, como preeclampsia.⁵ En un porcentaje muy alto de hemorragia obstétrica la causa es la atonía uterina o la incapacidad del útero para contraerse después de la expulsión del feto y de esta forma ocluir los vasos sanguíneos. Es conocida la etiología de las cuatro T como causantes de la hemorragia obstétrica: **tono** (atonía uterina) en 70 a 80%, **trauma** (laceraciones, hematomas, ruptura e inversión uterina) en 20%, **tejido** (tejido placentario retenido) en 10% y **trombina** (o causas hematoló-

gicas primarias) en menos de 2%. El tratamiento, además de la reposición hídrica y soporte transfusional, está enfocado principalmente a revertir la falta de contracción muscular uterina, por ello el paso inicial es la aplicación de uterotónicos como oxitocina inmediatamente después del nacimiento del hombro del producto, dosis que puede repetirse en dependencia de la cantidad de sangrado. La continuación escalonada de intervenciones médicas se resumen en el algoritmo *Haemostasis* (**Cuadro 1**).⁶

La disponibilidad de hemocomponentes y de las pruebas básicas de hemostasia para identificar una CID son de vital importancia en la posibilidad de supervivencia de la paciente. Entre los cambios hemostáticos fisiológicos que muestra la embarazada principalmente en el último trimestre del embarazo están el incremento entre 50 y 80% de la mayor parte de los factores de coagulación (excepto XI) y hasta 100% de incremento en

Cuadro 1. Algoritmo *Haemostasis*

H	Help and Hands: Ayuda y manos en útero (masaje)
A	ABC reanimación y fluidos IV
E	Establecer causa, h Emocomponentes disponibles
MO	M asaje uterino y O xitocina
S	Sala quirúrgica (trasladar a la paciente)
T	T apón uterino, empaquetamiento, T ranexámico
A	Aplicar suturas compresivas
S	Sutura hemostática de vasos uterinos, ováricos
I	Intervención radiológica de requerirse
S	Sin tardar más, realizar histerectomía

FVIII, Von Willebrand y fibrinógeno, esto ocasiona el acortamiento discreto en los tiempos de coagulación previo al parto y que puede ser una forma indirecta de reconocer pacientes con riesgo incrementado de hemorragia obstétrica.⁷ Las recomendaciones de reposición de volumen que incluye la administración de hemocomponentes en una hemorragia obstétrica se resumen en el **Cuadro 2**.⁸

De continuar el sangrado después del masaje uterino, administración de oxitócicos y la colocación del globo intrauterino, el siguiente paso es la intervención quirúrgica abdominal que va desde ligadura de vasos hasta la histerectomía total. Una vez eliminado el sangrado, continúa la vigilancia estrecha de las pruebas de laboratorio a fin de detectar lo más temprano posible el inicio de una coagulopatía por consumo. Equipos automatizados

como TEG y ROTEM (*Hemostasis analysis system*) ofrecen resultados inmediatos de la función del sistema hemostático ayudando en la toma de decisiones terapéuticas anticipadas incluso a las manifestaciones clínicas.⁹ Un equipo médico multidisciplinario, un banco de sangre disponible, la activación del código rojo y la capacitación en los diferentes protocolos de emergencia en hemorragia obstétrica son imprescindibles para garantizar la reanimación exitosa de la paciente.¹⁰

REFERENCIAS

1. United Nations. The global strategy for women's health 2016-2030. New York 2011.
2. Charbit B, Mandelbrot L, et al. The decrease of fibrinogen is an early predictor of the severity of postpartum hemorrhage. *J Throm Haemos* 2006;5:266-273.
3. Mavrides E, Allard S, Chandran E, et al. Prevention and management of postpartum haemorrhage. *BJOG* 2016;124:106-149.
4. Pinas A, Chandharan E. Postpartum haemorrhage. *Obst Gynaecol Rep Med* 2014;24:291-295.
5. Arulkumaran S. Massive postpartum haemorrhage and management of coagulopathy. *Obstetric Gyn Rep Medicine* 2007;17:119-123.
6. Varatharajan L, Chandharan E, Sutton J, Lowe V. Outcome of the management of massive postpartum hemorrhage using the algorithm HAEMOSTASIS. *Int J Gynaecol Obstet* 2011;113:152-154.
7. Szeci PB, Jorgensen M, Klajnbar A, et al. Haemostatic reference intervals in pregnancy. *Thromb Haemost* 2010;103:718-727.
8. Collins R, Guasch E. Managing major obstetric haemorrhage: Pharmacotherapy and transfusion. *Best Pract and Res Clin Anaes* 2017;31:107-124.
9. Afshari A, Wikkelsø A, Brok J, et al. Thrombelastography (TEG) or thromboelastometry (ROTEM) to monitor

haemotherapy. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;3:78-81.

10. Código rojo. Organización mundial de la salud. 2014.

Leucorreducción vs leucodepleción y su trascendencia clínica

Rita Concepción Gutiérrez-Hernández
IMSS.

Antecedentes

En los últimos 30 años, se ha demostrado que la existencia de los leucocitos en los componentes sanguíneos está implicada en algunas reacciones adversas asociadas con la transfusión sanguínea; por ello la reducción de éstos es eficaz para prevenir las reacciones febriles no hemolíticas, TRALI (*transfusion-related acute lung injury*), aloinmunización HLA (*human leukocyte antigen*), antígenos HPA (*human platelet antigens*), transmisión de citomegalovirus (CMV) y otros.

En el decenio de 1970 y principios del de 1980 se reconocieron a las reacciones producidas por la transfusión de sangre como un riesgo potencial de morbilidad y mortalidad; desde entonces se identificó la necesidad de implementar métodos para la disminución de esas reacciones, como el lavado de concentrados eritrocitarios con solución salina, de este modo se observó que la administración de concentrados eritrocitarios lavados reducía significativamente la incidencia de reacciones adversas, estableciendo la hipótesis de que esta reducción era el resultado de la remoción de leucocitos, plasma y las proteínas contenidas que disminuían con el proceso de lavado.¹ Asimismo, se reconoció que las reacciones febriles no hemolíticas se presentaban con prevalencia de 0.5 a 2.5% de las unidades

Cuadro 2. Recomendaciones de reposición de volumen en una paciente con hemorragia obstétrica

Cristaloides	Hasta 2 L
Coloides	Hasta 1.5 L
Concentrado eritrocitario	De urgencia: grupo O, Rh negativo, K negativo. Cambiar a grupo específico lo más pronto posible
Plasma fresco congelado	En caso de TP o TTPa prolongados Continúa hemorragia Después de 4 CE Pruebas no disponibles
Plaquetas	Sangrado imparable con < 75,000
Crioprecipitados	Sangrado y fibrinógeno < 2 g/L
Ácido tranexámico	A consideración médica
Factor VIIa recombinante	No recomendado

transfundidas y se demostró que los pacientes que habían manifestado este tipo de reacción disminuían 37% el riesgo de manifestarla cuando se transfundían concentrados eritrocitarios pobres en leucocitos preparados por medio de la técnica de centrifugación invertida.^{2,3} Aunque este tipo de técnicas siguen siendo utilizadas para la remoción de los contaminantes y mejoran la calidad de las células sanguíneas antes de la transfusión, hay evidencia de que los procesos de lavados basados en los métodos de centrifugación pueden ser inadecuados cuando se transfunden a pacientes inmunodeprimidos, neonatos o pacientes susceptibles a reacciones de tipo alérgico, sobre todo cuando se procesan en sistemas abiertos. También se ha demostrado que este método de separación celular y reducción de volumen daña los eritrocitos, contribuyendo a otras reacciones adversas.³ Con el paso del tiempo se desarrolló una variedad de técnicas para preparar componentes sanguíneos pobres en leucocitos, existe gran variación en estos métodos y combinaciones de las técnicas, los principales son: centrifugación diferencial, sedimentación, lavado de células, congelamiento-descongelación y filtración. Debido a la eficiencia para depleción de leucocitos, durante mucho tiempo se consideró al método de congelación-descongelación el método óptimo para preparar componentes sanguíneos pobres en leucocitos; debido a la dificultad en la disponibilidad de infraestructura y el tiempo de caducidad corto debido a que se realiza en un sistema abierto, fue desplazado por otros métodos más eficientes como la filtración.⁴ La filtración como método para remover leucocitos de la sangre fue primeramente descrito en 1926 por Fleming que utilizó una columna llena de algodón y lana

para preparar pequeñas cantidades de sangre pobre en leucocitos; en 1962 Greenwalt reportó un método de filtración para utilizarlo en la práctica de bancos de sangre;⁵ la técnica de filtración de leucocitos fue mejorada en 1972 por Diepenhorsz, que desarrolló un prototipo de filtros de leucocitos con una columna llena con lana y algodón a través de la que se removió 95% de todo los leucocitos. Finalmente, en 1990 en el Congreso de la Sociedad Internacional de Transfusión Sanguínea (ISBT) and la Asociación Americana de Bancos de Sangres (AABB) se presentó el primer filtro que logró leucorreducción de 6 log en 99.9999%.

Desde la primera descripción de la variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD) en el Reino Unido a fines de 1996 y ante la identificación de la transmisión por la transfusión sanguínea, se favoreció se implementara la política sanitaria de la leucorreducción universal como posible medio para mejorar la seguridad de la transfusión de sangre.⁶

Leucorreducción y leucodepleción

En la sangre se encuentran cerca de 2 mil millones de leucocitos, una unidad de sangre total tiene 1×10^{12} , un concentrado eritrocitario tiene $1-5 \times 10^9$, lo que se considera una carga crítica y que en $\log_{10}$ corresponde a 9-9.7 y con la centrifugación y remoción manual o automatizada de la capa leucocitaria se logra una concentración de 10^8 leucocitos, equivalente a una disminución de 1 $\log_{10}$ (leucorreducción) de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos. Los estándares de la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB) considera a un

concentrado leucorreducido si tiene una cifra total de leucocitos de menos de 5×10^6 con recuperación de 85% o más de los eritrocitos, los estándares del Comité de Expertos del Consejo Europeo recomiendan que esta cifra disminuya de 1×10^6 o menos. Los procedimientos por los que se disminuye tres o más logaritmos de los leucocitos se denominan leucodepleción; se logra con el uso de filtros de absorción selectiva de alta eficiencia previo al almacenamiento o posterior.⁷ Australia, desde 2003, desarrolló como objetivo generar componentes de la sangre con leucodepleción; elaborando una importante evaluación del costo contra el beneficio.⁸

Métodos para leucorreducción y su eficiencia

Se utilizan varios métodos para realizar la reducción de leucocitos en los componentes sanguíneos, los más frecuente realizados son: el lavado con suero salino elimina aproximadamente entre 70 y 90% los leucocitos, también plaquetas y plasma, con pérdida de 15% de los eritrocitos. La centrifugación con remoción del *buffy coat* disminuye en 70-80% los leucocitos con pérdida aproximada de 15-20% de eritrocitos. La leucorreducción al pie de cama, colocación del filtro reductor directamente antes de la transfusión, reducción de aproximadamente 99% de leucocitos, pérdida de eritrocitos de 10%. Los procedimientos de recolección por aféresis y la combinación de remoción del *buffy coat* con la utilización de filtro de alta eficiencia, prealmacenamiento elimina en 99.9% leucocitos, se recupera 85% de los eritrocitos, o sin la remoción del mismo únicamente utilizando el filtro de alta eficiencia; se requiere inventario por su coste económico alto y es el procedimiento ideal para obtener componentes con leucodepleción.⁹⁻¹¹

Los filtros están compuestos de material sintético (nylon, poliéster) de materiales naturales (acetato de celulosa), elaborados con material poroso granular compactado y distribución de poros de distintos tamaños en toda la matriz del filtro, permitiendo retención de partículas de diversos tamaños. La eficacia depende de la compactación, entramado y de las propiedades fisicoquímicas de las fibras, de las propiedades físicas de las células sanguíneas;¹² este procedimiento es ideal que se realice en las primeras 24 horas de la recolección de sangre, es el estándar internacional;⁹ la calidad del producto dependerá de la temperatura de almacenamiento, velocidad de filtración, efectividad del filtro, la capacitación del personal que lo realiza de manera efectiva en el banco de sangre.

Importancia de la acumulación de los modificadores de la respuesta biológica (BRM)

Si bien hemos destacado la importancia de la disminución de los logaritmos de leucocitos con la leucorreducción y leucodepleción de acuerdo con lo documentado en la bibliografía científica, estos beneficios no se traducen directamente en el contexto clínico, por ello, es importante reconocer la trascendencia de las lesiones generadas por el almacenamiento en los hemocomponentes (concentrado de glóbulos rojos, concentrado de plaquetas y plasma) obtenidos por fraccionamiento de la sangre o por aféresis. Ghezelbash y su grupo evaluaron algunas lesiones producidas por el almacenamiento comparando entre componentes eritrocitarios con leucorreducción (con remoción de *buffy coat*) y leucodepleción (remoción de *buffy coat* y filtración prealmacenamiento) contenidos en soluciones aditivas de las bolsas de recolección; encontraron que

en ambos grupos hubo aumento progresivo de las concentraciones de lactato deshidrogenasa (LDH), aumento en la concentración de lactato, disminución de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, pero la actividad de la misma fue mejor en las unidades con leucodepleción, estos cambios fueron más significativos a partir del día 14 del almacenamiento; la presencia de hemoglobina libre fue mayor en los componentes leucorreducidos que con leucodepleción; estas observaciones apuntan a la participación de los leucocitos en el daño a la membrana de los glóbulos rojos y al efecto beneficioso de la reducción de los leucocitos con respecto al método y técnica de leucorreducción en la calidad de las unidades de glóbulos rojos almacenadas.^{13,14} De acuerdo con las sugerencias de Castro las concentraciones de lactato y de LDH son marcadores de hemólisis. La reducción en el número de leucocitos en las unidades de glóbulos rojos disminuyó el daño producido por las especies reactivas del oxígeno (ROS), cuya producción se logra mediante la estimulación de la NADP oxidasa en los leucocitos.¹⁵ Sonker y colaboradores también informaron que las unidades con leucodepleción muestran menor elevación del K, LDH y hemólisis hacia el final del periodo de almacenamiento en comparación con las unidades sin filtración prealmacenamiento.¹⁶ La glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) es una enzima importante en el metabolismo de los glóbulos rojos y clave en la vía oxidativa de la pentosa fosfato (PPP). En el PPP, la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP⁺) se convierte en su forma reducida NADPH que es esencial para la protección mediada por glutatión reducido (GSH) contra el estrés oxidativo.^{17,18} La existencia de leucocitos en los componentes sanguíneos también genera otros

importantes mediadores de la respuesta biológica (BRM) incluido el ligando soluble CD40, citocinas, quimiocinas y lisofosfatidilcolinas algunas asociadas con daño pulmonar agudo relacionado con la transfusión; TRALI^{19,20} la oxidación de los lípidos, existencia de plaquetas y de los neutrófilos cuya actividad en el almacenamiento fue analizada por Michele y su grupo. En unidades leucorreducidas y en unidades con leucodepleción realizada en las primeras 24 horas como lo sugiere el estándar; encontraron mayor presencia de neutrófilos en las unidades con remoción del *buffy coat* y filtradas posteriormente para leucodepleción, durante el almacenamiento de las unidades leucorreducidas los neutrófilos alcanzan su máxima actividad en el día 28 (D28) de almacenamiento y las leucodepletadas en el día 35 (D35) hasta el día 42 (D42) de la caducidad. En el día 35 los lípidos estaban presentes y en concentración mayor a la del día 42 cuando la actividad de los PMN también fue mayor, además, se midió la concentración de ácido araquidónico en ambos grupos y no hubo aumento en la concentración, pero sí aumento importante en la concentración de aminoácidos desde el día 14 al 42, frente al día 1 (D1).¹⁹ El análisis proteómico realizado al sobrenadante contenido en las unidades de glóbulos rojos que se realizó leucorreducción y leucodepleción evaluó la existencia de peroxiredoxina 6 y α -enolasa, dos enzimas intracelulares que se acumulan durante el almacenamiento debido a la lisis de los eritrocitos estaban presentes en unidades de glóbulos rojos con los dos métodos de reducción de leucocitos, en mayor concentración en los leucorreducidos con remoción de *buffy coat*, la α -enolasa en las unidades por igual estuvo presente desde el día 1, en concentraciones de 3 ng/mL, al día 14 en las

unidades con leucodepleción se mantenía, no así en las leucorreducidas, la concentración era de 4 ng/mL para el día 28 en ambas se aumentaba para la leucodepleción alcanzó concentraciones de 7.2 ± 0.7 ng/mL y para las leucorreducidas con remoción de *buffy coat* 12.2 ± 1.4 ng/mL un incremento más significativo.^{19,21,22} Las cadenas de globina α y β aumentaron en el sobrenadante desde el día 1 al 42, lo que indica mayor hemólisis con el tiempo de almacenamiento, la hemopexina disminuyó en ambas unidades, pero esta disminución fue más significativa en las unidades con leucodepleción, lo que corrobora el aumento de la hemólisis; la actividad de los PMN del sobrenadante se volvió significativa en el día 14 con un máximo en el día 28 y manteniéndose hasta el día 42, esto mismo se apreció en el plasma. Es necesario conocer la importancia de la existencia de la peroxiredoxina 6 debido a que es una proteína de doble función con actividad de peroxidasa como sobre la fosfolipasa A2 que aumenta durante el estrés oxidativo, y la presencia de α -enolasa es una enzima glicolítica y un receptor de plasminógeno celular; se ha relacionado con daño pulmonar agudo relacionado con la transfusión por su capacidad para unirse el plasminógeno a la superficie celular de los monocitos.²³⁻²⁵ Estas lesiones en el almacenamiento son en componentes de eritrocitos, pero el mecanismo de acumulación de los modificadores de la respuesta biológica ocurre en todos los componentes de la sangre, los concentrados plaquetarios se asocian con más actividad proinflamatoria. La leucodepleción de acuerdo con el estudio realizado por Richter y su grupo que evaluó la utilidad de la leucodepleción prealmacenamiento para disminuir las propiedades proinflamatorias de las microvesículas (MV) derivadas del

almacenamiento y desempeñan un papel importante en la lesión pulmonar posterior a la reanimación utiliza unidades leucorreducidas y con leucodepleción prealmacenamiento y utilizó un modelo murino para someterlos a hemorragia y reanimación demostró que la existencia de microvesículas aumentó significativamente en el almacenamiento, hubo reducción de las microvesículas en las unidades con leucodepleción, pero el tamaño promedio de las microvesículas aumentó significativamente con el tiempo de almacenamiento y fue similar entre ambos grupos.²⁶ Las concentraciones de interleucina 1a (IL-1a) y quimiocinas derivadas de macrófagos fueron menores en las unidades con leucodepleción al infundirlas a los ratones con hemorragia en el momento de la reanimación se corroboró que se produjo menos edema pulmonar y reclutamiento de células inflamatorias en comparación con las unidades leucorreducidas, este trabajo respalda el efecto beneficioso de la leucodepleción prealmacenamiento de las unidades de glóbulos rojos para reducir la formación de mediadores proinflamatorios contenidos en las microvesículas generadas en el almacenamiento y que contribuyen a la lesión pulmonar después de la hemorragia y la reanimación con concentrados eritrocitarios almacenados; las microvesículas contribuyen a la activación de neutrófilos y a la lesión pulmonar relacionada con la transfusión, sobre todo la quimiocina derivada de macrófagos. Estos hallazgos tienen importantes implicaciones clínicas para atenuar la disfunción orgánica relacionada con la transfusión, incluida la lesión pulmonar aguda, que contribuye al aumento de la mortalidad sobre todo después de un traumatismo.²⁶⁻³⁰ Referente a los concentrados plaquetarios, de igual manera hay

modificadores de la respuesta biológica durante el almacenamiento generadas por apoptosis que implican activación celular y en el sobrenadante resulta la formación de micropartículas. Las micropartículas son vesículas de 0.1-10 μ m incluidas en una bicapa de fosfolípido, dado que las micropartículas se eliminan de la membrana de células activadas o apoptóticas, transportan varios componentes de las células parenterales, incluidas proteínas de los receptores de superficie, ARNm y microARN, entre otros. Varios estudios han sugerido que las micropartículas son importantes factores de señalización intercelular. Los principales son micropartículas derivadas de plaquetas (PMP, CD41a⁺), de glóbulos rojos (RPM, CD235⁺), micropartículas de leucocitos (LPM, CD45⁺), de monocitos (MMP, CD14⁺) y de células endoteliales (EMP, CD144⁺). Los PMP son los más abundantes en circulación y actúan como procoagulantes, proinflamatorios e inmunorreguladores. Los RMP participan en la promoción de la coagulación, la producción y procesamiento de especies reactivas de oxígeno (ROS), inmunomodulación, angiogénesis y apoptosis. Varios estudios han informado que las PMP se generan durante el almacenamiento de las plaquetas obtenidas por aféresis; micropartículas provenientes de glóbulos rojos, linfocitos, monocitos y células endoteliales que ingresan al sobrenadante de las plaquetas que se incrementan de manera importante durante el almacenamiento.³¹⁻³³ El procedimiento de aféresis para la obtención de componentes sanguíneos tiene como finalidad la obtención de componentes de calidad y, sobre todo, eliminar la mayor parte residual de los leucocitos, razón que motivó a Ming Gao y colaboradores a evaluar la presencia de las micropartículas

en concentrados plaquetarios obtenidos por aféresis y comparados con concentrados plaquetarios también obtenidos por aféresis más leucodepleción; concluyeron que el procedimiento de aféresis puede influir en la formación de PMP y se demostró que estas micropartículas micropartículas se incrementan de forma importante con el almacenamiento principalmente entre los días 3 y 5; también se observó que no hubo diferencias significativas entre los CP obtenidos por aféresis y los leucodepletados prealmacenamiento; este reporte también sugirió que las micropartículas derivadas de leucocitos y las micropartículas derivadas de monocitos en las plaquetas recolectadas por aféresis se extrajeron del plasma del donante y eritrocitos también contaminaron el sobrenadante, éstos a su vez producen mayor cantidad de micropartículas derivada de los glóbulos rojos por la temperatura de almacenamiento que no es la apropiada para ellos, ésta si es apropiada para la conservación de las plaquetas, la temperatura favorece la apoptosis³³ y da como resultado formación de micropartículas, esta cantidad de glóbulos rojos en el sobrenadante pueden ser la causa de la aloinmunización Rh; por otra parte, los PMPs acumulados están implicados en la lesión pulmonar aguda relacionada con la transfusión y en las propiedades hemostáticas tras la transfusión de plaquetas pero hay suficientes estudios que evidencian implicación de las MMPs y de las LMPs, aunque en este estudio no se revelaron diferencias significativas entre los productos leucorreducidos y leucodepletados prealmacenamiento, los recuentos de LPM fueron sustancialmente más bajos en los productos leucodepletados; en teoría, la leucodepleción reduce el número de LMP al eliminar los glóbulos blancos; pero también queda claro que la leucodepleción

no ejerce efecto en la formación de MMPs y EMP estuvo más influenciada por el procedimiento de aféresis y el tiempo de almacenamiento, pero no por la leucofiltración prealmacenamiento. Los mediadores de respuesta inflamatoria como citocinas, factor de necrosis tumoral y otras interleucinas también se encuentran de manera importante en los concentrados plaquetarios³⁴⁻³⁶ obtenidos por aféresis leucorreducido y en los que pasan por un proceso de leucodepleción debido a que en su mayor parte son solubles y ésta es la razón por la que, aunque se realiza leucorreducción y leucodepleción, no se eliminan de los componentes y favorecerán la aparición de reacciones adversas.

Trascendencia clínica de leucorreducción vs leucodepleción

Aloinmunización HLA

Uno de los beneficios clínicos de la leucodepleción es la reducción en el riesgo de la aloinmunización que incluyen la refractariedad plaquetaria y el rechazo del trasplante, la refractariedad plaquetaria puede deberse a varios mecanismos, algunas son condiciones no inmunitarias como: esplenomegalia, fiebre, sepsis, antibióticos, coagulación intravascular diseminada (CID) y reacciones inmunitarias que incluyen la aloinmunización provocada por embarazos previos, trasplante de órganos y la transfusión.

La inmunización HLA es una complicación de la transfusión que puede conducir a refractariedad plaquetaria, especialmente en pacientes oncohematológicos.

Puede aparecer como consecuencia de las transfusiones múltiples en 20 a 60% de estos pacientes; esta aloinmunización ocurre más comúnmente contra antígenos de clase I del HLA.

En 1988 se demostró que los concentrados de eritrocitarios, así como

los concentrados plaquetarios de donadores múltiples leucodepletados no inducían inmunización HLA.³⁷ Posteriormente se realizaron estudios prospectivos para analizar el papel de la leucorreducción para prevenir la inmunización HLA demostrándose que en pacientes que recibieron concentrados plaquetarios por centrifugación hubo refractariedad en 46%, mientras en los pacientes que recibieron concentrados plaquetarios leucorreducidos por filtración solo ocurrió en 11%; así mismo, se detectaron anticuerpos antiHLA en 42% por proceso de centrifugación y 7% en los que recibieron concentrados plaquetarios filtrados.

Otros estudios han demostrado disminución de la aloinmunización en 37% de los pacientes que recibieron componentes sanguíneos no filtrados y 21% entre pacientes transfundidos con componentes sanguíneos filtrados al pie de la cama.¹²

Prevención de las enfermedades infecciosas

El citomegalovirus (CMV) es uno de los herpes virus responsables de infecciones comunes y severas en pacientes inmunocompetentes con prevalencia de 40 al 100%, pero puede ser una condición que pone en riesgo la vida de fetos, neonatos, pacientes infectados con VIH, pacientes oncohematológicos y sujetos aptos seronegativos para trasplante de órganos sólidos o de progenitores hematopoyéticos, con considerable mortalidad y morbilidad por neumonitis, gastroenteritis y retinitis, etc.

La transmisión de CMV por transfusión se explica por los leucocitos latentemente infectados, lo que se identificó en 1984.

Se reconoce que el uso de componentes sanguíneos cero negativos o leucodepletados reduce hasta 93.1 y 92.3%, respectivamente, el riesgo de transmisión de CMV.³⁸⁻⁴⁰

Reacción transfusional febril no hemolítica

Es de las reacciones transfusionales más comunes, se estiman frecuencias de 0.5 a 40% dependiendo del tipo de componente transfundido y del tipo de paciente que recibe la transfusión.

Un estudio efectuado en el *Australian Health Minister's Advisory Council* reveló información que compara la prevalencia de reacción transfusional febril no hemolítica antes y después de leucodepleción universal, estableciendo la incidencia por cada 100 unidades de sangre transfundida en pacientes con cáncer, analizando retrospectivamente los datos dos años antes de la introducción de la leucodepleción universal, a través de métodos que utilizaron remoción de *buffy coat* y filtración selectiva al pie de cama del paciente este estudio identificó 22 reacciones transfusionales febriles no hemolíticas de un total de 866 transfusiones para una prevalencia de 2.5% antes de la leucorreducción y solamente 4 en 814 posteriores a la leucodepleción universal para 0.5%, de este modo se logró disminución de 20% en la prevalencia de la reacción febril no hemolítica.

En 2004 tres estudios retrospectivos demostraron la eficacia de la leucodepleción en disminuir la incidencia de reacciones transfusionales no hemolíticas después de la transfusión de CP y CE con leucodepleción prealmacenamiento de un total de 145,369 CE analizados y 137,982 CP transfundidos en un periodo de 8 años, se encontró disminución muy importante en la frecuencia de 47.1% para CE y de 93.1% para CP.^{12,41}

Daño pulmonar agudo relacionado con la transfusión

Los datos en la frecuencia de daño pulmonar agudo relacionado con la transfusión del UK SHOT entre

2006-2007 reportó 24 casos de daño pulmonar agudo relacionado con la transfusión en 2,714,228 de componentes sanguíneos transfundidos, es decir, 0.8 casos por 100,000 productos transfundidos. El reporte de hemovigilancia de Nueva Zelanda en 2006 informó 10 casos en 173,051 unidades. El daño pulmonar agudo relacionado con la transfusión representa la tercera causa más común asociada con la transfusión. La mortalidad por daño pulmonar agudo relacionado con la transfusión se estima en 7 a 25%, la incidencia total de daño pulmonar agudo relacionado con la transfusión en pacientes que reciben una transfusión varía entre 0.8 y 15%, la leucorreducción universal se ha asociado con disminución en la incidencia del síndrome de dificultad respiratoria en pacientes en estado crítico. En 2010 Blumberg demostró reducción de 83% en la prevalencia del daño pulmonar agudo relacionado con la transfusión de 2.8 a 0.48 casos por 100,000 componentes transfundidos antes y después de la leucorreducción, respectivamente.⁴²

También se ha demostrado que la filtración prealmacenamiento (leucodepleción) reduce la actividad proinflamatoria y previene el daño pulmonar agudo relacionado con la transfusión.

Costo-beneficio de la leucodepleción y barrera para la implementación

Mientras las ventajas están bien documentadas la relación de costo beneficio de la leucodepleción universal permanece como un tópico de controversia. Aproximadamente 3-4 millones de pacientes reciben transfusiones de sangre anualmente y el costo de la leucodepleción es aproximadamente 30 dólares por unidad; esto representa un gasto anual de alrededor de 500 millones de dólares. Los críticos argumentan

que este costo puede no valorar los beneficios clínicos y que la leucodepleción debe ser considerada y basada caso por caso. Las personas que proponen la leucodepleción universal afirman que, por ejemplo, Estados Unidos está penosamente por detrás de Europa y Canadá, quienes han instituido realmente la leucodepleción universal dentro de la industria de los Bancos de Sangre. La agencia que promueve el uso de leucodepleción, el Comité Asesor en Seguridad y Disponibilidad de la Sangre del Departamento de Salud y Servicios Humanos (DHHS), enviaron una proposición formal en 2001 recomendando la leucodepleción universal a la FDA. Ahora casi 15 años más tarde la leucodepleción se ha adoptado. No obstante, sólo aproximadamente 80% de todas las unidades transfundidas en Estados Unidos están leucodepletadas, la Cruz Roja que suple cerca de la mitad de la sangre transfundida ha incorporado la leucodepleción en sus prácticas. Los servicios de sangre unidos que proveen 10% de la sangre en Estados Unidos también cumplen con los estándares de leucodepleción universal. Entre los servicios independientes que transfunden el resto de la cantidad de sangre de la industria de los bancos de sangre casi la mitad cumple con los estándares de leucodepleción universal.⁴³⁻⁴⁶

Indicaciones médicas para la transfusión de componentes sanguíneos con leucodepleción

Independientemente de los costos que es un tema controvertido, la mayor parte de las agencias internacionales y de los comités nacionales de organizaciones de países que han implementado la leucodepleción universal, existen inequívocamente indicaciones médicas que establecen la provisión de componentes con depleción

para las siguientes enfermedades y condiciones clínico-patológicas; en especial The Australian Health Ministers Advisory Council (AHMAC), que ha realizado evaluaciones importantes con respecto al costo beneficio, recomienda la leucodepleción específica en: trasplante de médula ósea, trasplante de células madre, enfermedades oncohematológicas, hemoglobinopatías, anemia aplásica, trasplante renal y diálisis, cirugía cardíaca donde el paciente tiene comorbilidades o readmisión, reacciones transfusionales no hemolíticas febriles recurrentes, trasplante en individuos CMV negativos, transfusión CMV negativa para neonatos, aloinmunización HLA (refractoriedad plaquetaria identificada).

Conclusión

A partir del análisis de la información disponible es muy evidente que la leucorreducción universal debe ser recomendada siempre en cumplimiento de los estándares internacionales y evidencia científica,⁴⁶⁻⁴⁸ en beneficio sobre todo de los pacientes que lo requieren y menos en políticas de contención de costos controversiales, ampliamente cuestionadas, las indicaciones de la leucodepleción son indiscutibles para la prevención de la aloinmunización HLA, refractoriedad plaquetaria, disminución en el riesgo de la transmisión de CMV y son consistentes en la reducción de la prevalencia de las reacciones transfusionales no hemolíticas, así como la reducción de las infecciones posoperatorias y la mortalidad en cirugía cardíaca.⁴⁹ También la leucodepleción ha demostrado ser útil en la prevención de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob utilizando filtros que permitan la retención de proteínas, sin olvidar la inmunomodulación por transfusión.⁴⁹ Finalmente es una tendencia

imperativa basada en la eficiencia y eficacia mostrada en muchos países la leucodepleción universal por medio de filtración prealmacenamiento que ha demostrado ser el mejor método para la prevención de las reacciones adversas con la transfusión de componentes sanguíneos y asociada con la presencia de leucocitos.

REFERENCIAS

1. Goldfinger D, Lowe C. Prevention of Adverse Reactions to Blood Transfusion by the Administration of Saline-Washed Red Blood Cells: The Journal of AABB Transfusion 1981;21(3):277-280.
2. Schmidt A, Majed A, Kirkley S, Blumberg N. Proven and potential clinical benefits of washing red blood cells before transfusion: current perspectives: Review. Int J Clin Transfusion Med 2016;4:79-88.
3. Menitov JE, McElligott MC, Aster RH. Febrile transfusion reaction: what blood component should be given next?. Vox Sang 1982;42(6):318-321.
4. Bruil A, Beugeling T, Feijen J, Van Aken WG. The Mechanisms of Leukocyte Removal by Filtration. Transfusion Medicine Reviews 1995;9(2):145-166.
5. Greenwalt TJ, Gajewski M, McKenna JL. A new method for preparing buffy coat-poor blood. Transfusion 1962;2:221-229.
6. Gregori L, McCombie N, Palmer D, Birch P. Effectiveness of removal of infectivity of transmissible spongiform encephalopathies from blood. Lancet 2004;364(7):529-531.
7. Van de Watering B. Clinical significance of leukoreduction of blood components. Vox Sang 2000;78 (suppl 2):227.
8. Australian Healthcare Associates, 2003 Business Case for the introduction of Pre-storage partial leucodepletion in Australia by the Australian Red Cross Blood Service. Unpublished Report for the Commonwealth Department of Health and Aging.
9. Karger R, Kretschmer V. Inline-filtration. Transf Apher Sci 2002;27:137-152.
10. Paunovic D, van der Meer P, Kjeldsen-Kragh J, Kekomaki R, Larsson S, Greppi N et al. Multicenter evaluation of whole-blood filter that saves platelets. Transfusion 2004;44:1197-1203.
11. Seghatchian MJ. Update on leukocyte depleted blood components. Components SIG Satellite Symposium in conjunction with Annual Scientific Meeting of the British Society for haematology in Association with British Blood Transfusion Society, Bournemouth, UK 1993;21:1-11.
12. Bianchi M, Vaglio S, Pupella S, Marano G, Facco G, Liumbruno GM et al. Leucoreduction of blood components: an effective way to increase blood safety? Blood Transfus 2016;14:214-227.
13. Ghezelbash B, Azarkeivan A, Pourfathollah AA, Deyhim M, Hajati E, Goodzarzi A. Comparative Evaluation of Biochemical and Hematological Parameters of Pre-Storage Leukoreduction during RBC Storage. IJHOSCR 2018;12(1):35-42.
14. Verma M, Dahiya K, Malik D, et al. Effect of Blood Storage on Complete Biochemistry. J Blood Disord Transfus 2015;6(6):1-4.
15. Castro O, Hoque M, Brown BD. Pulmonary hypertension in sickle cell disease: cardiac catheterization results and survival. Blood 2003;101(4):1257-61.
16. Sonker A, Dubey A, Chaudhary R. Evaluation of a Red Cell Leucofilter Performance and Effect of Buffy Coat Removal on Filtration Efficiency and Post Filtration Storage. Indian J Hematol Blood Transfus 2014;30(4):321-327.
17. Peters AL, Van Noorden CJ. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and malaria: cytochemical detection of heterozygous G6PD deficiency in women. J Histochem Cytochem 2009;57(11):1003-11.
18. Peters AL, Bruggen RV, de Korte D, Van Noorden CJ, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase activity decreases during storage of leukoreduced red blood cells. Transfusion 2016;56(2):427-32.

19. Loi MM, Kelher M, Dzieciatkowska M, Hansen KC, et al. A comparison of different methods of red blood cell leukoreduction and additive solutions on the accumulation of neutrophil-priming activity during storage. *Transfus* 2018;58:2003-12.
20. Silliman CC, Fung YL, Ball JB, et al. Transfusion-related acute lung injury (TRALI): Current concepts and misconceptions. *Blood Rev* 2009;23:245-55.
21. Silliman CC, Dickey WO, Paterson AJ, et al. Analysis of the priming activity of lipids generated during routine storage of platelet concentrates. *Transfusion* 1996;36:133-139.
22. Dzieciatkowska M, Silliman CC, Moore EE, et al. Proteomic analysis of the supernatant of red blood cell units: the effects of storage and leukoreduction. *Vox Sang* 2013;105:210-218.
23. Miles LA, Ellis V. Alpha-enolase comes muscling in on plasminogen activation. *Thromb Haemost* 2003;90:564-66.
24. Silliman CC, Paterson AJ, Dickey WO, et al. The association of biologically active lipids with development of transfusion related acute lung injury: a retrospective study. *Transfusion* 1997;37:719-26.
25. Silliman CC, Bjornsen AJ, Wyman TH, et al. Plasma and lipids from stored platelets causa lung injury in an animal model. *Transfusion* 2003;43:633-40.
26. Richter JR, Sutton JM, Hexley P, et al. Leukoreduction of packed red blood cells attenuates proinflammatory properties of storage-derived microvesicles. *J Surg Res* 2018;223:28-135.
27. D'Alessandro A, Kriebardis AG, Rinalducci S, et al. An update on red blood cell storage lesions, as gleaned through biochemistry and omics technologies. *Transfusion* 2015;55:205-19.
28. Hoehn RS, Jernigan PL, Chang AL, Edwards MJ, et al. Molecular mechanisms of erythrocyte aging. *Biol Chem* 2015;621-31.
29. Kremserova S, Perecko T, Soucek K, et al. Lung neutrophilia in myeloperoxidase deficient mice during the course of acute pulmonary inflammation. *Oxid Med Cell Longev* 2016;2016:5219056.
30. Belizaire RM, Prakash PS, Richter JR, et al. Microparticles from stored red blood cells activate neutrophils and cause lung injury after hemorrhage and resuscitation. *J Am Coll Surg* 2012;214:648-655.
31. Kent MW, Kelher MR, West FB, Silliman CC. The proinflammatory potential of microparticles in red blood cells units. *Transfus Med* 2014;24:176-181.
32. Richter JR, Sutton JM, Belizaire RM, et al. Macrophage-derived chemokine (CCL22) is a novel mediator of lung inflammation following hemorrhage and resuscitation. *Shock* 2014;42:525-531.
33. Gao M, Zhang B, Zhang Y, Chen Y, et al. The effects of apheresis, storage time, and leukofiltration on microparticle formation in apheresis platelet products. *Transfusion* 2018;58:2388-94.
34. Strasser EF, Happ S, Weiss DR, et al. Microparticle detection in platelet products by three different methods. *Transfusion* 2013;53:156-166.
35. Chih C, Tai-Chen L, Ming-Jang S, Hsiu-Chen L, et al. Transfusion-associated adverse reactions (TAARs) and cytokine accumulations in the stored blood components: the impact of prestorage versus poststorage leukoreduction. *Oncotarget* 2018;9(4):4385-394.
36. Ferrer F, Rivera J, Corral J, González-Conejero R, et al. Evaluation of leukocyte-depleted platelet concentrates obtained by in-line filtration. *Vox Sang* 2000;78:235-241.
37. Brand A, Claas FHJ, Voogt PJ, et al. Alloimmunization after leukocyte-depleted multiple random donor platelet transfusions. *Vox Sang* 1988;54:160-166.
38. Ratko TA, Cummings JP, Oberman HA, et al. Evidence-based recommendations for the use of WBC-reduced cellular blood components. *Transfusion* 2001;41:1310-19.
39. Lieberman L, Devine DV, Reesink HW, et al. Prevention of transfusion-transmitted cytomegalovirus (CMV) infection: standards of care. *Vox Sang* 2014;107:276-311.
40. Ziemman M, Heuft HG, Frank K, et al. Window period donations during primary cytomegalovirus infection and risk of transfusion-transmitted infection. *Transfusion* 2013;53:1088-94.
41. Paglino JC, Pomper GJ, Fisch GS, et al. Reduction of febrile but not allergic reactions to RBCs and platelets after conversion to universal pre-storage leukoreduction. *Transfusion* 2004;44:16-24.
42. Blumberg N, Heal JM, Gettings KF, et al. An association between decreased cardiopulmonary complications (transfusion-related acute lung injury and transfusion-associated circulatory overload) and implementation of universal leukoreduction of blood transfusions. *Transfusion* 2010;50:2738-44.
43. Dzik S, Aubuchon J, Jeffries L, et al. Leukocyte reduction of blood components: public policy and new technology. *Transfus Med Rev* 2000;14:34-52. [PubMed:10669939]
44. Commonwealth Department of health and Aging 2001 Review of the Australian Blood Banking and Plasma Products Sector (The Stephen Review) www.nba.gov.au/policy/review-more.html
45. Commonwealth Department of Health and Aging, Blood and Blood Products Committee, October 2001 "Leucodepletion". A brief of the Australian Health Ministers' Conference. Canberra.
46. Guidance for Industry Pre-Storage Leukocyte Reduction of Whole Blood and Blood Components Intended for Transfusion, U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration.
47. Tsantes AE, Kyriakou E, Nikolopoulos GK, et al. Cost-effectiveness of leucoreduction for prevention of febrile non-haemolytic transfusion reactions. *Blood Transfus* 2014;12:232-237.
48. Janssen MP, Van der Poel CL, Behr-Gross ME. The collection, Testing and Use of Blood Products in Europe in

2009. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM) of the Council of Europe. Strasbourg: Council of Europe publishing; 2014.

49. Velásquez JF, Cata JP. Transfusions of blood products and cancer outcomes. *Rev Esp Anestesiol Reanim.* 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.redar.2015.02.013>.

Retos en el manejo integral de los niños con leucemia linfoblástica aguda

Oscar González-Llano

Hematología Pediátrica, Hospital Universitario, UANL, Monterrey, Nuevo León, México.

Los datos publicados en México por el CENSIA sobre los resultados obtenidos en niños con leucemia linfoblástica aguda tratados bajo el régimen del Seguro Popular muestran tasas de supervivencia libre de enfermedad y de supervivencia global muy por debajo de las que se obtienen en otros países. Si bien es cierto que estos datos no se pueden generalizar para todos los hospitales que participaron compartiendo su información y es posible también que no sean los mismos que los obtenidos por otros sistemas de salud, incluidos los muy pocos casos atendidos en la medicina privada, parecería conveniente, al menos, tener una duda razonable acerca de lo que estamos haciendo como país en la atención de estos pacientes. Seguramente son muchos los factores que se pueden mencionar para explicar tales resultados, comentaré los que a mi juicio son dos de los más importantes, los relacionados con la definición de los diferentes grupos de riesgo y los implicados en la morbilidad y mortalidad relacionada con el tratamiento. Al final mencionaré algunas estrategias que pudieran ser implementadas para tratar de obtener mejores resultados, sabiendo que es posible que

algunas de ellas ya se estén llevando a cabo por algunas instituciones.

En mi opinión, una buena parte de los problemas se generan por la gran heterogeneidad de nuestra población de pacientes, independientemente del sitio donde son atendidos, se incluyen en el mismo grupo de riesgo pacientes con diferencias muy importantes en su estado nutricional, en el grado de educación de los cuidadores y con dinámicas familiares muy diversas. Además, cuando los protocolos de tratamiento son compartidos por diferentes hospitales, como podrían ser los afiliados al Seguro Popular o la Seguridad Social, las condiciones de los mismos tienen también variaciones muy significativas entre cada uno de los centros hospitalarios.

Todos estamos de acuerdo en la importancia de separar a los niños con leucemia linfoblástica aguda en diferentes grupos y de esta manera administrar protocolos de tratamiento con una intensidad proporcional al riesgo de recaída. Es un hecho también que prácticamente todas las clasificaciones de riesgo se han desarrollado en países muy diferentes al nuestro y en ellos algunos factores de gran importancia no son incluidos muy probablemente porque no representan un problema importante considerando las características de sus sistemas de salud. En nuestro país seguramente estos factores sí tienen un papel significativo. Es importante mencionar que estos factores no incluidos en la definición del riesgo han probado su valor en el desenlace de los niños con leucemia linfoblástica aguda, entre ellos se podría considerar la desnutrición u obesidad al momento del diagnóstico o durante la duración del tratamiento, la capacidad de los responsables del cuidado de los pacientes para tener un adecuado apego al tratamiento de quimioterapia que se administra en su domicilio y, además, las difi-

cultades que para ellos representan la adquisición de otros medicamentos, la comunicación con el equipo de médicos tratantes y los obstáculos que implica el traslado al centro hospitalario en situaciones de emergencia.

Asimismo, otro de los factores a considerar es el elevado número de muertes relacionadas con el tratamiento de quimioterapia, principalmente por complicaciones infecciosas, los datos del CENSIA así lo demuestran, este tipo de complicaciones son responsables de muchos de los fallecimientos en niños con cáncer que son atendidos en países en vías de desarrollo como el nuestro. Diferentes aspectos deben considerarse, por un lado, la intensidad del tratamiento, en México la mayor parte de los protocolos son de alguna manera muy parecidos a los que se prescriben en Canadá, Estados Unidos y Europa occidental y tienen casi siempre fármacos, dosis o combinaciones que generan neutropenias profundas y prolongadas, estos episodios de neutropenia se complican frecuentemente y dan lugar a internamientos hospitalarios para su atención.

Se acepta que el inicio de antibióticos de amplio espectro en los pacientes con fiebre y neutropenia debe ser lo más temprano posible, con mucha frecuencia en nuestro casos esto ocurre de manera tardía por la incapacidad para detectar en casa las primeras manifestaciones, por la dificultad para llegar al hospital y finalmente por el diferimiento para iniciar el tratamiento con antibióticos por la situación burocrática de cada centro.

Además, es frecuente en este tipo de pacientes que ocurran infecciones invasivas por hongos que necesariamente requieren agentes antimicóticos más potentes y que muchas veces no están disponibles o, en el mejor de los casos, se

contará con ellos tiempo después de haber sido indicados. También es común la necesidad de ingresar a estos pacientes en servicios de cuidados intensivos; sin embargo, muchos hospitales tienen un número reducido de camas en estas unidades y, por tanto, los traslados no ocurren en el mejor momento, lo que hace que el pronóstico de los enfermos se agrave.

Tenemos en nuestro país graves problemas en la atención de niños con leucemia linfoblástica aguda: un número de casos nuevos más alto en proporción al que ocurre en países de primer mundo, cuidadores con bajo nivel de educación y además con número insuficiente de médicos especializados o al menos con mala distribución de los mismos.

Diferentes estrategias se pueden poner en práctica, éstas pueden ser desarrolladas por nosotros mismos o adecuarlas para trabajar en equipo con instituciones internacionales que las han creado desde hace mucho tiempo y que han compartido su experiencia y emitido lineamientos que ya han probado ser efectivos en países en condiciones similares a las nuestras.

Todos compartimos la necesidad de trabajar en equipo, considerando las muy diferentes condiciones que vivimos en México tal vez se podría considerar la creación de redes de hospitales donde se compartan más o menos las mismas condiciones en la atención de los enfermos en vez de aspirar a desarrollar protocolos nacionales.

Se deberán desarrollar de manera rutinaria clínicas de nutrición que acompañen a los pacientes y familias durante toda la evolución de la enfermedad, es muy probable que los desenlaces de los niños se vean influidos cuando existen desnutrición u obesidad.

Ya se ha demostrado el importante papel que juega mantener un es-

crupuloso apego al tratamiento de los medicamentos orales durante la fase de mantenimiento, por lo que establecer programas de educación para los cuidadores también debe ser un asunto de gran prioridad para nosotros, se deberán abordar también otros temas en relación con la educación del cuidado del paciente.

La intensidad de la quimioterapia administrada juega un papel muy importante en las complicaciones infecciosas, considerando las condiciones de cada uno de los centros, tal vez valdría la pena considerar si nuestro entorno de trabajo nos permite administrar o no tratamientos muy mielotóxicos. En los casos de fiebre y neutropenia el inicio de los antibióticos de amplio espectro debe ocurrir lo más tempranamente posible, de acuerdo con la situación de cada centro deben establecerse mecanismos para lograr aplicarlos lo más pronto posible.

En el hospital, considerando el número muy reducido de camas en las unidades de cuidados intensivos, existen escalas o métodos de vigilancia estrecha que permitan establecer medidas anticipadas para tratar de evitar traslados no previstos a estas unidades.

Finalmente, creo que cualquier medida a considerar para tener mejores resultados requerirá el trabajo en conjunto de todos los interesados, establecer sistemas de comunicación entre nosotros para trabajar de manera conjunta debe de ser una prioridad para todos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Shalkow J, et al. Comportamiento epidemiológico del cáncer en menores de 18 años. México 2008-2014. Bulletin CENSIA.
2. Orgel E, et al. Obesity is associated with residual leukemia following induction therapy for childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia. Blood 2014;124:3932-8.

3. den Hoed MA et al. The negative impact of being underweight and weight loss on survival of children with acute lymphoblastic leukemia. Haematologica 2015;100: 62-9.
4. Bhatia S, et al. 6MP adherence in a multiracial cohort of children with acute lymphoblastic leukemia: a Children's Oncology Group study. Blood 2014;124:2345-53.
5. Magrath I, et al. Pediatric cancer in low-income and middle-income countries. Lancet Oncol 2013;14:e104-16.
6. Gupta S, et al. Treatment-related mortality in children with acute lymphoblastic leukemia in Central America. Cancer 2011;117:4788-95.
7. Caniza MA et al. Infectious complications in children with acute lymphoblastic leukemia treated in low-middle-income countries. Expert Rev Hematol 2015;8:627-45.

Diagnóstico de talasemias

Bertha Ibarra-Cortés,¹ Lourdes del Carmen Rizo-de la Torre,² Francisco J Perea-Díaz³

¹ Instituto de Genética Humana Dr. Enrique Corona Rivera, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, México.

² División de Medicina Molecular.

³ División de Genética.

Centro de Investigación Biomédica de Occidente, Instituto Mexicano del Seguro Social, Guadalajara, Jalisco, México.

La hemoglobina (Hb) es un tetramero compuesto por cuatro globinas, cada una con un grupo Hemo. Existen globinas tipo α : ζ y α , y tipo β (no- α): ϵ , γ^G , γ^A , δ y β , que forman las seis hemoglobinas normales: Hb Gower 1 ($\zeta_2\epsilon_2$), Hb Gower 2 ($\alpha_2\epsilon_2$), Hb Portland ($\alpha_2\gamma_2$), Hb fetal (F) ($\alpha_2\gamma_2$), Hb A ($\alpha_2\beta_2$) y Hb A₂ ($\alpha_2\delta_2$). Los genes que codifican las globinas se encuentran en dos familias: 1) genes globínicos α (Chr. 16p13.3) incluye tres genes funcionales (α , α_2 y α_1) y 2) genes

globínicos β (Chr. 11p15.15) con cinco genes funcionales (ϵ , γ^G , γ^A , δ y β).¹

Hemoglobinopatías

Las hemoglobinopatías son un grupo de anemias hemolíticas hereditarias debidas a alteraciones en síntesis o estructura de las globinas ocasionadas por mutaciones en los genes que las codifican y se clasifican en dos categorías principales.¹

- a) Talasemias: se distinguen por la ausencia o disminución en la síntesis de una o más cadenas globínicas que conducen al desequilibrio en la relación de cadenas α/β .
- b) Variantes estructurales: son alteraciones en la secuencia de aminoácidos del polipéptido globínico, sin afectar su tasa de síntesis. Las más frecuentes en todo el mundo son: Hb S, HbC, HbE y HbD.

La Organización Mundial de la Salud ha estimado que cerca de 7% de la población mundial padece una hemoglobinopatía y que al año nacen alrededor de 330,000 niños afectados.²

Talasemias

Las talasemias (Tal) se clasifican de acuerdo con el tipo y número de genes globínicos afectados, las más comunes y clínicamente importantes son talasemia α (Tal- α) y talasemia β (Tal- β).¹

Talasemia alfa

La Tal- α implica alteraciones en la síntesis de cadenas α . En un individuo sano se expresan cuatro genes α y su genotipo es $\alpha\alpha/\alpha\alpha$. La delección de un gen ($-\alpha$) o ambos genes α ($--$) en un cromosoma se clasifica por su tamaño, escrito como superíndice (ej. $-\alpha^{3.7}$, $-\alpha^{4.2}$, $-\alpha^{SEA}$, $-\alpha^{FIL}$, etc.). Cuando la Tal- α es debida a una mutación puntual, la nomenclatura utilizada es $\alpha^t\alpha$.³ Los fenotipos de Tal- α se clasifican de acuerdo con el número de genes funcionales, cuyas características hematológicas y bioquímicas se muestran en el **Cuadro 1**.

a. Portador silencioso (tres genes globínicos α funcionales, $\alpha\alpha/-\alpha$). b. Rasgo de Tal- α (dos genes globínicos α funcionales, $-\alpha/-\alpha$ o $\alpha\alpha/--$). c. Enfermedad por Hb H (un gen globínico a funcional, $-\alpha/--$). d. Hidropesía fetal (ausencia de genes globínicos a funcionales). La triplicación de genes α (cinco genes globínicos funcionales, $\alpha\alpha/\alpha\alpha\alpha$) también conduce a microcitosis e hipocromía por desbalance en la relación de cadenas α/β .

Talasemia beta

La Tal- β muestra una considerable heterogeneidad clínica y fenotípica revelada por los parámetros hematológicos y bioquímicos. Si hay ausencia total de globina- β se llaman alelos β^0 y si la reducción de globina- β es mínima se denominan alelos β^{++} o alelos β^+ si la reducción es significativa.

Con base en el estado clínico de los pacientes y el tipo de alelo se clasifican en: a) Tal- β mayor o anemia de Cooley, b) Tal- β intermedia y c) Tal- β menor.⁴

Tal- β mayor o anemia de Cooley (β^0/β^0 ó β^0/β^+)

Usualmente los pacientes con escaso o nulo tratamiento muestran retraso en el crecimiento, palidez, ictericia, coloración bronceada en la piel, desarrollo muscular escaso, hepato-esplenomegalia, úlceras en piernas, hematopoyesis extramedular y cambios esqueléticos por expansión de la médula ósea. Los pacientes con un esquema de transfusiones adecuado también pueden padecer complicaciones por sobrecarga de hierro si no tienen el tratamiento quelante. Padecen anemia severa, microcitosis, hipocromía, ausencia o mínima HbA, muy elevada HbF y HbA₂ con valores normales o elevados.

Tal- β intermedia (β^+/ β^+ ó β^+/ β^0)

Los hallazgos clínicos son muy similares a los de los pacientes con talasemia mayor, incluyen palidez, ictericia, coleditiasis, hepato-esplenomegalia, cambios esqueléticos moderados a severos, úlceras en piernas, nódulos extramedulares de tejido eritroide hiperplásico, tendencia a padecer osteopenia y osteoporosis. En estos pacientes se observa aumento en el número de eritrocitos y de eritroblastos, acompañado de microcitosis e

Cuadro 1. Parámetros hematológicos y bioquímicos observados en los diferentes fenotipos de talasemia α en pacientes estudiados en el laboratorio de Genética 2 de la División de Genética del CIBO, IMSS, en quienes se ha identificado la mutación

Condición	Genotipo	Genes activos	n (76)	CE (x 10 ¹² /L)	Hb (g/dL)	VCM (fL)	HCM (pg)	HbA ₂ (%)	HbF (%)
Portador silencioso	$\alpha\alpha/-\alpha$	3	41	5.0±0.3	11.7±1.1	72.0±1.5	23.4±0.9	2.4±0.2	1.0±0.9
Rasgo de Tal- α	$-\alpha/-\alpha$ o $\alpha\alpha/--$	2	25	5.8±0.7	11.6±1.4	62.1±3.3	20.2±1.4	2.3±0.4	1.7±1.1
Enfermedad por HbH	$-\alpha/--$	1	7	5.3±0.5	9.7±0.6	60.6±5.3	18.4±1.6	1.0±0.3	5.0±6.6
Triplicación genes α	$\alpha\alpha/\alpha\alpha\alpha$	5	3	5.1±0.2	11.3±2.6	67.3±9.3	22.2±5.6	2.0±1.5	1.2±1.1

CE: cuenta eritrocitaria; Hb: hemoglobina; VCM: volumen corpuscular medio; HCM: hemoglobina corpuscular media.

hipocromía, presencia de HbA, aumento significativo de HbF y HbA₂ con valores normales o elevados. *Tal-β menor* (β^{++}/β^A , β^+/β^A , ó $^0/\beta^A$) Los pacientes tienen manifestaciones clínicas ligeras o subclínicas, usualmente pueden pasar inadvertidos y son captados en forma fortuita por anemia ligera, microcitosis e hipocromía sin respuesta satisfactoria a tratamiento de hierro con concentraciones normales o ligeramente aumentadas de HbF y concentraciones elevadas de HbA₂. El **Cuadro 2** muestra los valores hematológicos observados en pacientes estudiados en el Laboratorio de Genética 2 de la División de Genética, CIBO, IMSS.

Talasemias en México

Talasemia α

En México hemos realizado dos estudios relevantes en pacientes con microcitosis e hipocromía y encontramos Tal- α en 35 de 51 y en 52 de 94 pacientes estudiados,^{5,6} en quienes identificamos 15 mutaciones: ocho previamente descritas - $\alpha^{3,7}$, $\alpha^{IVS1(-5nt)}$, $\alpha^{59C>T}$, - $\alpha^{4,2}$, $\alpha^{Mosella}$, $\alpha^{Plasencia}$, α^{FIL} , α^{SEA} y siete mutaciones nuevas identificadas sólo en pacientes mexicanos: α^{MEX1} , α^{MEX2} , α^{MEX3} , α^{MEX4} , $(\alpha\alpha)^{MEX5}$, $(\alpha\alpha)^{MEX6}$ y $(\alpha\alpha)^{MEX7}$. Estos datos muestran que la Tal- α es una enfermedad común en población mexicana. Los alelos más frecuentes son - $\alpha^{3,7}$, $\alpha^{IVS1(-5nt)}$, $\alpha^{59C>T}$.

Talasemia β

La Tal- β es la hemoglobinopatía más común en nuestro país en pacien-

tes con anemia hemolítica o con sospecha de hemoglobinopatía por parámetros clínicos o hematológicos (microcitosis e hipocromía), ya que se ha encontrado en cerca de 70 % de los pacientes con trastornos de la hemoglobina estudiados en el Centro de Investigación Biomédica de Occidente y en los Laboratorios Clínicos de Puebla, respectivamente tanto en estado homocigoto (β^{Tal}/β^{Tal}) como heterocigoto simple (β^{Tal}/β) o heterocigoto compuesto (β^{Tal}/β^S , β^{Tal}/β^D).⁷ En el Centro de Investigación Biomédica, IMSS, el análisis de la patología molecular ha permitido la identificación de 21 alelos distintos con alteraciones a diferentes niveles: 3 en transcripción: -90 C>G, -87 C>T, -28 A>C; 8 en maduración del ARN: IVS1:1 G>A, IVS1:5 G>A, IVS1:5 G>C, IVS1:6 T>C, IVS1:110 G>A, IVS2:1 G>A, IVS2:2 T>G, IVS2:745 C>G, 8 en traducción: Cd inicio A>G, Cd 17 A>T, Cd 39 C>T, Cd 6 -A, Cd 11 -T, Cd 41/42 -TTCT, Cd 77/78 -C, Cd 78/85 -20 bp, y 2 de fusión; $\delta\beta$ -tal tipo español y Hb Lepore Washington-Boston. Las mutaciones más frecuentes son: Cd 39 C>T, IVS1:1 G>A, IVS1:110 G>A y $\delta\beta$ -tal tipo español.⁸

Diagnóstico de talasemias

El estudio de las talasemias en México de forma integral (hematológica, clínica, y molecular) permitirá definir con mayor certeza la evolución clínica del paciente, así como las bases moleculares de la fisiopatología. Esta enfermedad

hereditaria en nuestro país es mucho más compleja de lo que parece, por lo que se requiere realizar más investigación en este campo. Se han descrito diferentes estrategias para el estudio de las hemoglobinopatías.⁹⁻¹¹ En la **Figura 1** se muestra el algoritmo que se sugiere para el estudio de hemoglobinopatías (modificado de la referencia 9).

A nuestro laboratorio acuden pacientes enviados por diferentes servicios de hematología con sospecha de hemoglobinopatía por manifestar una o varias de las siguientes características: anemia hemolítica hereditaria, anemia resistente a tratamiento con hierro, anemia muy severa durante el embarazo, cianosis, ictericia, eritrocitosis, tamizaje neonatal anormal o índices eritrocitarios anormales observados de manera fortuita (CE, Hb, VCM, HCM, hematócrito, CMHC, RDW).

El abordaje metodológico en el laboratorio lo enfocamos en tres aspectos:

Hematológico: citometría hemática completa por equipo automatizado con insistencia en los siguientes parámetros: cuenta eritrocitaria (CE), hemoglobina (Hb), volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM), reticulocitos, hierro sérico y ferritina.

Bioquímico: separación electroforética o por HPLC de hemoglobinas para conocer sus características fisicoquímicas y cuantificación de

Cuadro 2. Parámetros bioquímicos y hematológicos observados en los diferentes fenotipos de Tal- β

Condición	Genotipo	n	CE (x 10 ¹² /L)	Hb (g/dL)	VCM (fL)	HCM (pg)	HbA ₂ (%)	HbF (%)
Heterocigoto Tal- β	β^{Tal}/β	138	5.4±0.8	10.7±1.5	61.4±6.2	19.9±2.2	4.4±1.4	3.5±3.2
Homocigoto Tal- β /Tal- β	β^{Tal}/β^{Tal}	10	2.8±0.7	6.7±1.5	80.4±8.7	25.1±3.4	2.9±2.1	23.1±15.2
Heterocigoto Compuesto Tal- β /HbS	β^{Tal}/β^S	9	3.2±0.8	7.5±1.7	74.2±8.5	23.7±1.9	4.2±2.1	17.4±5.9

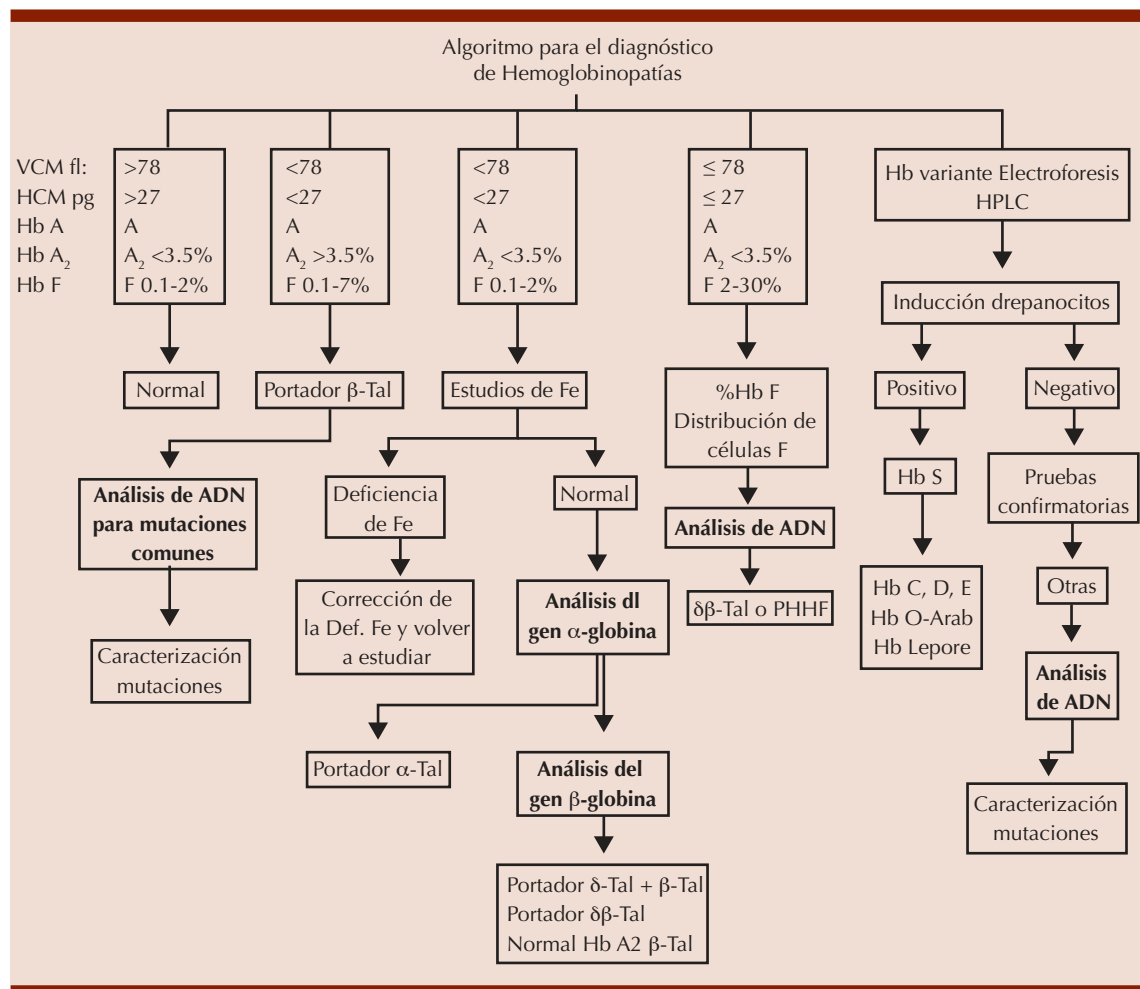


Figura 1. Algoritmo para el diagnóstico de hemoglobinopatías.

los diferentes tipos de hemoglobina (HbA, HbF, HbA₂ y variantes), pruebas de estabilidad al isopropanol y pruebas adicionales como inducción de falciformación, inducción de cuerpos de Heinz y otras pruebas de acuerdo con la hemoglobinopatía en estudio).

Biografía molecular: amplificación refractaria mutación específica (ARMS) o PCR-ASO (PCR con sondas alelo específicas), secuenciación de ADN de los genes *HBA* y *HBB* principalmente, GAP-PCR (PCR con iniciadores que flanquean deleciones específicas, MLPA (am-

plificación con sondas dependiente de ligandos múltiples).

REFERENCIAS

1. Forget BG, Bunn HF. Classification of the Disorders of Hemoglobin. Cold Spring Harb Perspect Med 2013;3:a011684.
 2. Watherall DJ, Clegg JB. Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. Bull World Health Organ 79:704, 2001a.
 3. Farashi S, Harteveld CL. Molecular basis of α -thalassaemia. Blood Cells Mol Dis 70:43. 2018.
 4. Thein SL. The molecular basis of β -thalassaemia. Cold Spring Harb Perspect Med 3:a011700, 2013.
 5. de-la-Cruz-Salcedo EI, et al. Molecular analysis of complex cases of alpha- and beta-thalassaemia in Mexican mestizo patients with microcytosis and hypochromia reveals two novel alpha0-thalassaemia deletions -Mex1 and -Mex2. Int J Lab Hematol 38:535, 2016.
 6. Rentería-López VM, et al. Alpha thalassaemia mutations in Mexico: A three-year experience. En preparación, 2019.
 7. Ibarra B, Perea FJ, Ruiz-Reyes G, Esparza MA, López-Guido B, Aguilar

- Luna JC, Hernández-Guadarrama C, Pompa T, González MG. Talasemias en México. XLV Congreso Anual de la Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, Cancún 2004.
8. Rizo-de-la-Torre LC, et al. Three novel HBB mutations, -90 C>G, FS Cd 78/85 -20 bp, and IVS2:2 T>G. Update of the mutational spectrum of β -Thalassemia in Mexican mestizo patients. *Int. J. Lab. Hematol* 39:539, 2017.
 9. Clark BE, Thein SL. Molecular diagnosis of haemoglobin disorders. *Clin Lab Haematol* 26:159, 2004.
 10. Wajcman H, Moradkhani K. Abnormal hemoglobins, Detection and characterization. *Indian J Med Res* 134:538, 2011.
 11. Harteveld CL. State of the art and new developments in molecular diagnostics for hemoglobinopathies in multiethnic societies. *Int J Lab Hematol* 36:1, 2014.

El papel de los biobancos en el desarrollo de la investigación en hematología

Luz María Ruíz-Godoy Rivera,¹ Virginia I Enríquez-Cárcamo,² Ma. Lourdes López-Castro²

¹ Coordinadora del Banco de Tumores.

² Adscrito al Banco de Tumores. Instituto Nacional de Cancerología, Ciudad de México.

Con el descubrimiento del ADN y posteriormente con la secuenciación del genoma humano, la necesidad de realizar investigación biomédica en muestras que contuvieran la información genética lo más cercanas a sus características biológicas originales fue en aumento. Por ello desde hace dos décadas aproximadamente la necesidad de crear biobancos (bancos de tejido, tumores, plasma, suero, ácidos nucleicos, etc.) se incrementó considerablemente.

Los biobancos son un establecimiento público o privado, que acoge una colección de muestras

biológicas concebida con fines diagnósticos, terapéuticos o de investigación biomédica (o los tres); este establecimiento debe estar organizado como una unidad técnica, con criterios de calidad, orden y destino. Cuando nos apegamos a esta definición, podemos darnos cuenta que los biobancos son una fuente importante de recursos biológicos asociada con datos clínicos fidedignos, cuyas muestras son colectadas por medio de protocolos estandarizados y controles de calidad; convirtiendo así a los biobancos en una herramienta poderosa para la investigación biomédica, medicina traslacional y medicina personalizada.

Existen diferentes tipos de biobancos, que pueden definirse de acuerdo con la fuente biológica que almacenen y el uso para el que sea designada esta fuente biológica:

- 1) Biobancos cuyo objetivo es almacenar muestras biológicas con la finalidad de realizar trasplante de éstas, como son: los bancos de piel, córnea, células madre hematopoyéticas, etc., en donde se debe garantizar la viabilidad de las células para que puedan ser trasplantadas en el huésped. Por lo regular el almacenaje en este tipo de bancos se realiza en nitrógeno líquido (-190°C) y debe tenerse disponibilidad para realizar pruebas inmunológicas y de compatibilidad.
- 2) Bancos para fertilidad o de semillas, que almacenan espermatozoides, óvulos o ambos con la finalidad de realizar fertilización *in vitro* e implante de óvulos fecundados.
- 3) Bancos de ADN, en donde se almacenan ADN cuya finalidad es almacenar muestras de ADN o ácidos nucleicos para realizar pruebas genómicas.
- 4) Biobancos para la investigación, en donde se realiza colecta de muestras (tejido, suero, plasma, tumores, etc.) con el objetivo de realizar investigación en las diferen-

tes disciplinas de la biomedicina. Independientemente del tipo de biobanco, todos deben cuidar y garantizar: los derechos y el anonimato de los donantes, que las muestras almacenadas cuenten con una carta de consentimiento informado, el correcto uso de las muestras y la distribución de las muestras. En el caso particular de los biobancos para la investigación también deben dar apoyo a los proyectos facilitando el acceso a las muestras, crear colecciones heterogéneas para diferentes proyectos, armonizar e integrar colecciones ya existentes y garantizar una excelente calidad y trazabilidad de las muestras biológicas.

Actualmente en México, no existen leyes que rijan a los biobancos o a la práctica de donación de muestras para la investigación. Por lo que los bancos existentes nos apegamos a la reglamentación que pudiera ser aplicable a esta práctica como: la NOM-012-SSA3-2012 que establece "los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos", así como a la reglamentación internacional en bioética como el código de Núremberg y la declaración de Helsinki.

En el Instituto Nacional de Cancerología, en 2009, se estableció el primer banco de tumores en el país, destinado a la colección, criopreservación y almacenaje de muestras de tumores para distribuirlos a proyectos de investigación en cáncer. Dos años después el banco de tumores se convirtió en biobanco al tener un acervo importante de muestras de tejido tumoral e implementar la colecta de muestras de sangre periférica, para almacenar plasma, suero o ambos de pacientes con cáncer. En la actualidad el biobanco del INCan cuenta con colecta, criopreservación y almacenaje de muestras de tejido tumoral, tejido normal adyacente, sangre

periférica (suero, plasma o ambos) de pacientes con cáncer y sangre periférica (plasma) de donadores aparentemente sanos (**Figura 1**), de los que 32 casos de tejido son

linfomas y 689 casos de sangre periférica (plasma) que pertenecen a neoplasias hematológicas. El **Cuadro 1** muestra el número de casos que pertenecen a pacientes

con neoplasias hematológicas por diagnóstico.

En cuanto a hematología, la participación de los biobancos puede ser muy extensa, más allá de la preservación de células madre hematopoyéticas para el trasplante, un biobanco puede almacenar muestras: de plasma, suero o ambos, células poli y mononucleares, células plasmáticas (para mieloma múltiple), médula ósea, tejido (en linfomas), etc.; toda esta variedad de muestras biológicas puede ser utilizada para la investigación, diagnóstico y seguimiento de las enfermedades. A lo largo de los años, se han realizados estudios de cohorte para determinar marcadores moleculares de tumor y, a su vez, convertirlos en blancos terapéuticos; la leucemia mieloide crónica es de las primeras enfermedades con un blanco molecular terapéutico y el desarrollo de un fármaco contra ésta. Para desarrollar estos proyectos de cohorte el apoyo de los biobancos es invaluable porque son los biobancos los que cuentan con la infraestructura y métodos estandarizados para la colecta y almacenamiento de las muestras durante el desarrollo del estudio.

Conclusiones

Los biobancos son una fuente importante de muestras biológicas para cualquier especialidad de la medicina; contar con métodos estandarizados y trazables les otorga garantías irrefutables a las muestras que proporcionan.

En el caso de la hematología, a pesar de que los biobancos pudieran ser una fuente importante de recurso, los bioancos se han mantenido como un establecimiento de almacenaje únicamente para trasplante, habría que fortalecer la participación de los biobancos en la investigación.

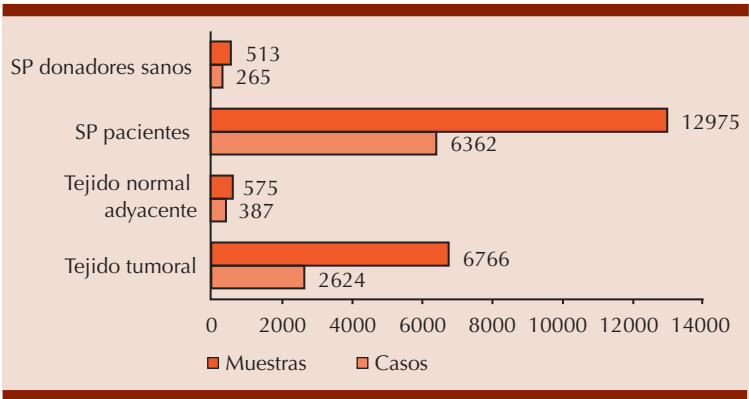


Figura 1. Total de muestras almacenadas en el biobanco del INCan, México.

Cuadro 1. Listado de casos por diagnóstico de neoplasias hematológicas almacenadas en el biobanco del INCan, México

Diagnóstico	Muestra biológica	Casos
Linfoma no Hodgkin	Plasma	432
Linfoma de Hodgkin	Plasma	89
Leucemia mieloide aguda (LMA)	Plasma	35
Leucemia mieloide crónica (LMC)	Plasma	20
Leucemia linfoblástica aguda (LLA)	Plasma	52
Leucemia linfocítica crónica (LLC)	Plasma	9
Mieloma múltiple	Plasma	38
Plasmcitoma plasmacítico	Plasma	2
Síndrome mielodisplásico	Plasma	4
Hiperplasia linfoide (folicular)	Plasma	1
Hiperplasia linfoide mixta	Plasma	1
Síndrome linfoproliferativo	Plasma	3
Anemia aplásica	Plasma	3
Linfoma no Hodgkin	Tejido	16
Linfoma de Hodgkin	Tejido	12
Hiperplasia linfoide	Tejido	1
Plasmcitoma plasmático	Tejido	1
Hiperplasia linfoide mixta	Tejido	1
Hiperplasia linfoide folicular	Tejido	1

BIBLIOGRAFÍA

1. Ruíz-Godoy LM, Meneses-García A, Suarez-Roa ML, Enríquez-Cárcamo VI, Lechuga-Rojas R, Reyes-Lira E.; Organization of a Tumor Bank: The nExperience of the National Cancer Institute of Mexico. *Pathobiology* 2010;77: 147-54.
2. Ruíz-Godoy R Luz María. Biobancos como plataforma para investigación biomédica. Edit. Corinter, 2018, 1ª ed., ISBN 978 607 7618 75 1.
3. Norma Oficial Mexicana: NOM-012-SSA3-2012. Que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos. DOF: 04/01/2013.
4. Shabihkhani Maryam, Lucey Gregory M, Wei Bowen, et al. The procurement, storage, and quality assurance of frozen blood and tissue biospecimens in pathology, biorepository and biobank settings. *Clin Biochem* 2014 March; 47 (0): 258-66.
5. Elliot Paul and Peakman Tim C, On behalf of UK Biobank, The UK Biobank sample handling and storage protocol for the collection, processing and archiving of human blood and urine. *Int J Epidemiol* 2008;37:234-44.
6. Díaz de León L, Romo A, Zartae-Orsorno A. Linfoma no Hodgkin y manejo de tejidos guía para el diagnóstico correcto, 2013.

Indicaciones de trasplante de células troncales hematopoyéticas en pediatría

María de los Ángeles Del Campo-Martínez
CMN la Raza. Instituto Nacional de Pediatría, Ciudad de México.

Introducción

El trasplante de células troncales hematopoyéticas (TCTH) es un grupo de modalidades terapéuticas utilizado para regenerar el tejido hematopoyético y constituye una terapia útil, en ocasiones única, para tratar una gran variedad de enfermedades hematológicas y no

hematológicas. En el *Center for International Blood and Marrow Transplant Research* (CIBMTR) están registrados 462 centros de trasplante, en 50 países, de los cuales 9 son latinoamericanos. En Latinoamérica el primer trasplante se realizó en 1970, y en México en 1980 en el Instituto Nacional de la Nutrición, actualmente son 32 centros de trasplante, distribuidos en 9 estados, con una cifra histórica acumulada de 6043 procedimientos realizados, es posible que con los centros no incluidos en este cálculo, se tengan alrededor de 6500 trasplantes hasta octubre de 2017; de 1979 a 2003 se realizaban un promedio anual poco mayor a 60 procedimientos, en los últimos tres lustros se incrementó más de 10 veces la actividad en trasplante; sin embargo, las cifras obtenidas ubican a nuestro país en subdesarrollo en el ámbito del trasplante hematopoyético, considerando la población de 123.5 millones de habitantes a 2017 y la gran cantidad de pacientes con indicación de trasplante que no lo reciben (90%) por diversos motivos.^{1,2} El European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) publicó en 1996 la primera versión de indicaciones europeas de trasplante en niños y adultos en hemopatías, tumores sólidos y trastornos inmunitarios,³ éstas se han actualizado periódicamente según el surgimiento de mejores y nuevas terapias en las diferentes enfermedades, fuentes de células troncales hematopoyéticas, nuevas técnicas y resultados de este procedimiento. Las indicaciones de trasplante en este artículo son recomendaciones basadas en estudios prospectivos, registro de resultados y en las opiniones de expertos del EBMT en los últimos decenios, en la actualidad, casi 35,000 trasplantes son realizados y registrados anualmente por este grupo. Las recomendaciones deben ser adaptadas según realidad

de cada país, disponibilidad del donador, representatividad de grupos étnicos en registros de donantes voluntarios de sangre de cordón umbilical o médula ósea y siguiendo estándares internacionales de calidad (JACIE-FACT). El pronóstico y éxito del trasplante actualmente están siendo evaluados por factores de riesgo como edad del paciente, estado de la enfermedad subyacente, intervalo entre el diagnóstico y el trasplante, trasplante alogénico, compatibilidad y combinación de género receptor-donador, los factores de riesgo más importantes en el niño son: edad mayor a 10 años, estados avanzados de la enfermedad y donante alternativo.^{4,5}

Categorización de los trasplantes

Las indicaciones de trasplante se han clasificado según la evidencia en la bibliografía en: 1. Estándar (E): resultado obtenido en estudios comparativos, debe ser superior al tratamiento de la enfermedad sin trasplante. 2. Opción clínica (OC): es la definición más compleja de todas y está basada en estudios de cohortes, con evidencia de efectividad y niveles de toxicidad aceptables. 3. Experimental (EXP): experiencia limitada, procedimientos que se realizan dentro de un ensayo clínico aceptado por autoridades sanitarias competentes. 4. No recomendado (NR): incluye etapas en las que no se justifica el procedimiento como etapas iniciales de la enfermedad cuyo tratamiento convencional no justifica el riesgo de muerte relacionada con el trasplante (MRT) o en aquéllos con enfermedad avanzada y probabilidad de éxito mínimo. Grados de evidencia: I. Evidencia en al menos un estudio aleatorizado bien realizado. II. Evidencia en al menos un estudio sin aleatorización bien realizado, estudio de cohortes o casos control, preferible multicéntrico y estudios históricos.

III. Evidencia procedente de opiniones basadas en experiencia clínica y autorizadas, estudios descriptivos y opiniones de expertos. La selección del donante está determinada por su disponibilidad –histocompatibilidad, edad, estado de salud, citomegalovirus–; edad y peso del receptor, enfermedad subyacente y riesgo de recaída. Las fuentes pueden ser médula ósea, sangre periférica o de cordón umbilical.⁴

Hematopatías malignas. Leucemia mieloblástica aguda

El pronóstico se ha modificado de manera significativa en los últimos tres decenios, con quimioterapia intensiva se logra remisión entre 80-90% y curación 30 y 70%, el trasplante representa opción terapéutica atractiva en los de alto riesgo, en 2 RC el trasplante es la única arma terapéutica que ha logrado curaciones prolongadas.⁶

Leucemia linfoblástica aguda

Es el cáncer más frecuente en la infancia, la piedra angular del tratamiento es la quimioterapia, la supervivencia libre de enfermedad ha mejorado de manera considerable, por lo que la indicación en 1 RC está en constante evolución y está recomendada a un grupo reducido de pacientes (8-10%) de alto riesgo y éstos son: alteraciones citogenéticas definidas, respuesta a tratamiento (prednisona), remisión al término de inducción, EMR positiva, 20-25% recae, las recaídas tempranas constituyen las de peor pronóstico, a pesar de lograr una 2 RC en 90%, muchas presentan enfermedad progresiva a corto plazo, diversas estrategias terapéuticas se están implementando.⁷

Leucemia mieloide crónica

A diferencia del adulto, en los niños, los inhibidores de la cinasa de tirosina no constituyen la terapia más adecuada, porque no hay

certeza de que erradiquen el clon maligno a largo plazo, el trasplante alogénico sigue siendo el único tratamiento curativo, con donante familiar idéntico la supervivencia varía entre 70 y 80% y con donante no relacionado 40-60%, después del año del diagnóstico no tiene los mismos resultados en ninguna de las tres fases de presentación, la recomendación actual es iniciar tratamiento con imatinib y realizar el trasplante antes de los seis meses del diagnóstico.⁸

Linfomas

En niños el pronóstico del linfoma de Hodgkin (LH) y linfoma no Hodgkin (LNH) aun en etapas avanzadas es favorable, en quienes falla el tratamiento de quimioterapia y radioterapia está indicado el trasplante autólogo, este último ha sido históricamente elegido antes que el alogénico por su rápida disponibilidad y la ausencia de complicaciones inmunitarias, la introducción de regímenes de intensidad reducida y disminución de MRT han permitido revalorar el trasplante alogénico en etapas avanzadas, considerando el efecto de injerto contra tumor.⁹

Síndrome mielodisplásico

En niños el pronóstico es desfavorable, el trasplante es la terapia más adecuada para tratar las citopenias rebeldes (alteraciones del cromosoma 8, cariotipos complejos, monosomía 7 o 7q-), mielodisplasias de alto grado (anemia resistente con exceso de blastos –AREB– y anemia resistente con exceso de blastos en transformación –AREB-t–) y las secundarias (asociado con LAM progresan rápidamente). En leucemia mielomonocítica juvenil (LMMJ) el trasplante es el único tratamiento curativo.¹⁰

Tumores sólidos

En este grupo de enfermedades oncológicas el trasplante autólogo

ha demostrado ser útil en neuroblastoma, con supervivencia en 1 R 50% y en tándem 60%, en 2 R 27%, en otros tumores sólidos no hay indicaciones estándares, no se ha demostrado un claro beneficio entre los tratamientos comunes y el trasplante autólogo o alogénico, la recaída sigue siendo la causa de fracaso de esta arma terapéutica, se requieren estudios prospectivos.¹¹

Hematopatías no malignas. Inmunodeficiencia primaria grave (SCID)

El trasplante constituye una urgencia, el éxito es óptimo si se efectúa de manera temprana (90%), no sólo considerar la edad, sino el estado clínico al momento del procedimiento y paridad HLA. No se requiere acondicionamiento en el caso de MSD (5-20%).¹²

Hemoglobinopatías (talasemia y anemia drepanocítica)

La indicación de trasplante es una decisión compleja que depende de la evolución y avance de la enfermedad, no constituyendo una indicación de primera línea. En la talasemia alfa o beta con donante familiar idéntico (MSD) se indica en caso de dependencia de transfusiones, con receptor y donador mayor de 2 años, el uso de donante alternativo no ha tenido los resultados esperados, en ausencia de daño hepático y con terapia quelante la supervivencia global (SG) es de 90% y de mayor riesgo 56-82%. En anemia drepanocítica (SCD) con MSD se indica en presencia de: deficiencia neurológica atribuible a SCD recurrente, crisis vasooclusivas sin respuesta a terapia, SG 90% y supervivencia libre de enfermedad (SLE) 82-86%, de donante alternativo no ha demostrado ser una alternativa, de sangre de cordón umbilical (SCU) emparentado ha demostrado buenos resultados.¹³

Síndromes de insuficiencia medular (aplasia medular grave –AMG–)

La aplasia medular grave constituye una urgencia en trasplante, ante la confirmación de MSD se hace el procedimiento con SLE 70-90%, en ausencia de MSD, el paciente debe recibir tratamiento de inmunosupresión, frente a fracaso de ésta, recurrencia de la enfermedad o confirmación de mielodisplasia, el paciente podrá ser apto para trasplante de donante alternativo de SCU y médula ósea no relacionada, el trasplante haploidéntico ha demostrado ser una terapia para estos pacientes.¹⁴

Errores del metabolismo

El trasplante ha constituido terapia eficaz con SLE 80% en pacientes con afección leve o asintomáticos; sin embargo, su importancia ha debido ser revalorada a la luz de terapia génica y de sustitución enzimática.¹⁵

Osteopetrosis

Las series más extensas reportan con MSD muy buena SLE 73% a 5 años, en lo que se refiere de donante alternativo SLE 40 y 24% para donante no relacionado y haploidéntico, respectivamente, éste en los últimos años ha mejorado su resultado, de SCU no emparentado 50%; la mayor incidencia de fracaso deriva de la toxicidad relacionada con el procedimiento, enfermedad venooclusiva hepática y complicaciones pulmonares.¹⁶

Otras enfermedades de depósito

Se han reportado casos de síndrome de Hurler, enfermedad de Krabbe y adrenoleucodistrofia ligada a X, en otras alteraciones menos frecuentes, los resultados son difíciles de interpretar. La presencia de afección de sistema nervioso central constituye contraindicación para el trasplante ante la irreversibilidad de dicho daño. La adrenoleucodistrofia

requiere de manera absoluta la demostración de alteración inicial de SNC, así como valoraciones cognitivas y sensitivas, con proyección de calidad de vida de 12 a 24 meses recomendado por EBMT, considerando el intervalo existente hasta el implante y recuperación de la funcionalidad del injerto.¹⁷

Enfermedades autoinmunitarias

Desde 1996 se inició el trasplante en este grupo de enfermedades en pediatría, como artritis reumatoide, lupus eritematoso diseminado, esclerodermia, los pacientes han sido seleccionados considerando la resistencia a terapias ordinarias y con el objetivo de ser sometidos a tratamiento de rescate con auto-trasplante, aceptados como opción clínica, y radica en el efecto inmunosupresor y en la inducción de tolerancia inmunitaria al reorganizar células autorreactivas hacia un fenotipo tolerante (CD34+CD25+), el trasplante alogénico no ha demostrado su utilidad, se postula con base en la erradicación del residuo autorreactivo por efecto grafo frente a autoinmunidad y presencia de un nuevo sistema autoinmunitario.¹⁸

REFERENCIAS

1. Indicaciones de trasplante de células tronco hematopoyéticas. Guía de evidencias y recomendaciones: Guía de práctica clínica. México, IMSS; 2017.
2. El trasplante de células hematopoyéticas en México. Una perspectiva desde la III Jornada Académica de Trasplante Hematopoyético en el IMSS Puebla. Rev Hematol Mex 2018 abril-junio;19(2):101-104.
3. Schmitz N, Gratwohl A, Goldman JM. Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe in 1996 and proposals for an operational classification. Bone Marrow Transplantation 1996;17:471-477.
4. Mothy M, Carreras E, Dufour C. The EBMT Handbook. Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies. 2019.
5. Majhail N. Indications Autologous and Allogeneic Cell Transplantation. BBMT 21 (2015) 1863-1869.
6. Ribeiro. Advances in treatment of de novo pediatric acute myeloid leukemia. Curr Opin 2014 Nov;26(6):656-62.
7. Michael A. Pulsipher L. High Risk Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia: To Transplant or Not to Transplant? Biol Blood Marrow Transplant 2011 January;17(1 Suppl):S137-S148.
8. Hijiya N, Millot F, Suttrop M. Chronic myeloid leukemia in children: clinical findings, management, and unanswered questions. Pediatric Clinics of North America 2015;62(1):107-119.
9. Allen CE, Kelly KM, Bollard CM. Pediatric lymphomas and histiocytic disorders of childhood. Pediatr Clin North Am 2015 Feb;62(1):139-65.
10. Basquiera AL, Pizzi S, Correas AG, Longo PG, Goldman WC, Prates MV, Formisano S, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in pediatric myelodysplastic syndromes: a multicenter experience from Argentina. Pediatr Blood Cancer 2015;62(1):153-7.
11. Sureda A, Bader P, Cesaro S, Dreger P, Duarte RF, Dufour C, Falkenburg JH, et al. Indications for allo- and auto-SCT for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2015. Bone Marrow Transplant 2015 Aug;50(8):1037-56.
12. Pai SY, Cowan MJ. Stem cell transplantation for primary immunodeficiency diseases: the North American experience. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2014;14(6):521-6. Review.
13. Angelucci E, Matthes-Martin S, Baronciani D, Bernardini F, Bonanomi S, Cappellini MD, Dalle JH, et al. EBMT Inborn Error and EBMT Paediatric Working Parties- Hematopoietic stem cell transplantation in thalassemia major and sickle cell disease: indications and management recommendations from an international

- expert panel. Haematologica 2014 May;99(5):811-20.
14. Burroughs LM, Woolfrey AE, Storer BE, Degg HJ, Flowers ME, Martin PJ, Carpenter PA, et al. Success of allogeneic marrow transplantation for children with severe aplastic anaemia. Br J Haematol. 2012;158(1):120-8.
 15. Jameson E, Jones S, Remington T. Enzyme replacement therapy with laronidasa (Aldurzyme) for treating mucopolysaccharidosis type I. Cochrane Database Sys Rev. 2016 Apr 1;4:CD009354. Review.
 16. Orchard PJ, Fasth AL, Le Rademacher J, He W, Boelens JJ, Horwitz EM, Al-Seraihy A, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for infantile osteopetrosis. Blood 2015 Jul 9;126(2):270-6.
 17. Parenti G, Pignata C, Vajro P, Salerno M. New strategies for the treatment of lysosomal storage diseases. Int J Mol Med 2013 Jan;31(1):11-20.
 18. Pasquini MC, Voltarelli J, Atkins HL, Hamerschlak N, Zhong X, Ahn KW, Sullivan KM, et al. Transplantation for autoimmune diseases in north and South America: a report of the Center for International Blood and Marrow Transplant Research. Biol Blood Marrow Transplant 2012;18(10):1471-8.

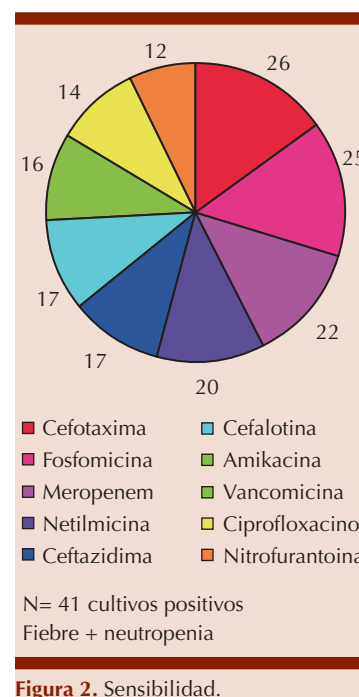
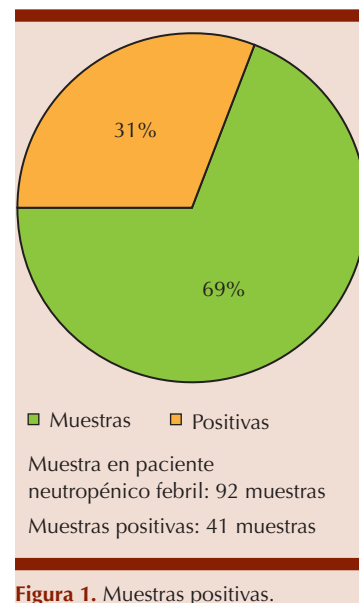
Manejo de neutropenia febril en niños

Eduardo Zermeño-González
Médico infectólogo pediatra, adscrito al servicio de Infectología, Hospital Infantil Universitario de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Coahuila, Unidad Torreón. Maestro titular de la Cátedra de Infectología de la Universidad Autónoma de Coahuila, Unidad Torreón, delegado por Coahuila de la Asociación Mexicana de Infectología Pediátrica.

Introducción

La neutropenia febril es una complicación muy frecuente en los niños con cáncer y tratados con quimioterapia y constituye la causa más frecuente de morbilidad y

mortalidad en esta población por la inmunodeficiencia que representa el riesgo de infecciones oportunistas y que son la causa más importante de mortalidad, por lo que su abordaje representa un reto para el hematólogo y para el infectólogo pediatras; debo mencionar, aunque es de ustedes bien conocido, que los factores de riesgo son la intensidad de la neutropenia con base en el número de neutrófilos en sangre, la duración de ésta mas aún si es mayor de 7 días y la comorbilidad acompañante más frecuentemente en el hígado, el riñón o ambos, inestabilidad hemodinámica, alteraciones neurológicas, infiltrados pulmonares, síntomas gastrointestinales, mucositis, infección del catéter vascular, lo que determinaría la categoría de alto o bajo riesgo. El inicio de este enfoque deberá ser la causa de la fiebre donde independientemente de los gérmenes mas frecuentes reportados en la bibliografía como grampositivos estafilococos, gramnegativos, *E. coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, hongos: *Candida*, *Aspergillus*, criptococos, virus; especialmente la familia herpes, mi mensaje será que cada institución deberá tener un conocimiento de la flora que se maneja en su unidad y más que nada la sensibilidad para los diferentes antibióticos, que deberá adaptarse a cada unidad en particular, en nuestra pequeña unidad lo que hemos encontrado en el pasado año se muestra en las **Figuras 1 a 7**. Lo que se aprecia en nuestra limitada experiencia no dista mucho de lo reportado en la bibliografía, donde vemos que los cultivos positivos son pocos (31%) y sólo 8% de hemocultivos y los gérmenes son los habituales relatados en la bibliografía. *S. epidermidis* en primer lugar asociado con su capacidad de adherirse a catéteres (Slim), *E. coli*, *Klebsiella* y *Ps. au*.



Por otro lado, con respecto a la sensibilidad antibiótica encontramos cierta resistencia a meropenem y vancomicina y sensibilidad a fosfomicina, que es un antibiótico que probablemente no lo veamos en las

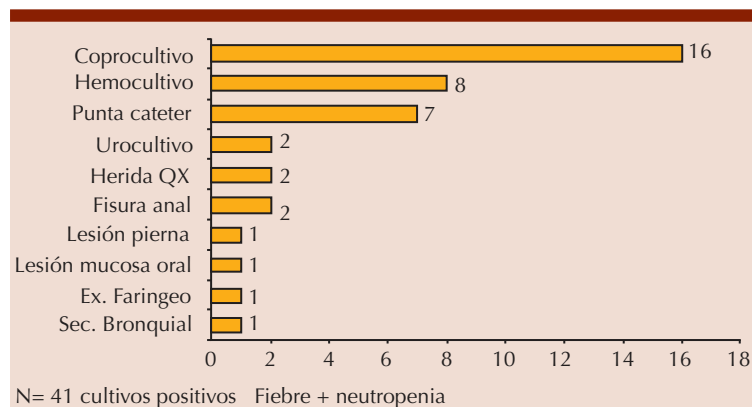


Figura 3. Tipo de muestra.

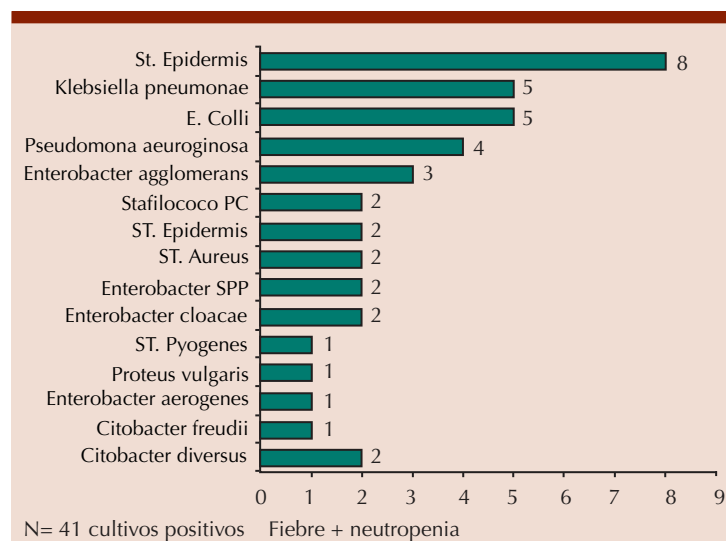


Figura 4. Tipo de patógeno.

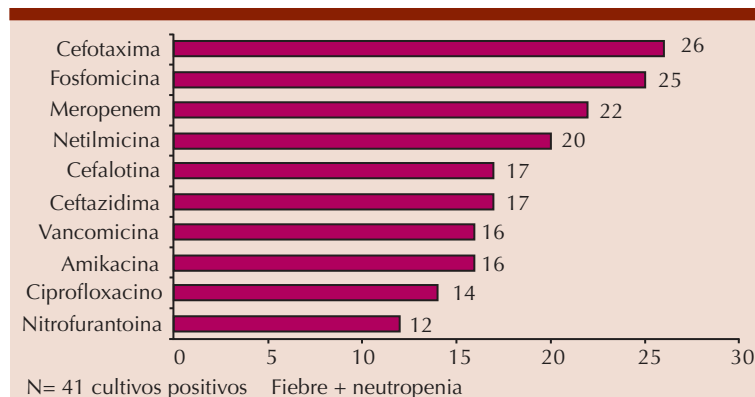


Figura 5. Sensibilidad.

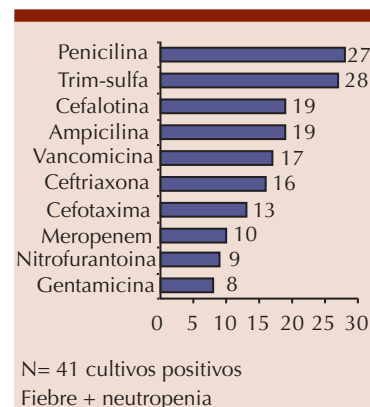


Figura 6. Resistencia.

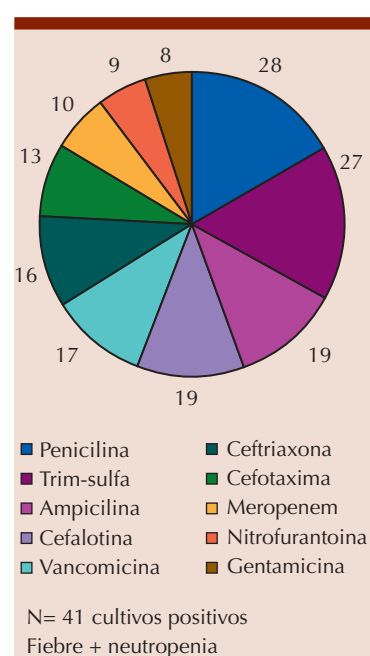


Figura 7. Resistencia.

recomendaciones de las diferentes guías de la bibliografía y a nosotros nos ha sido útil.

Se deberá ser insistente en el estudio de cada paciente, evaluar su riesgo de infección, exploración minuciosa de piel, mucosas, toma de hemocultivos de catéter y periféricos para detectar contaminación de éste y bacteriemia real, cultivos de lesiones dérmicas y supurativas,

urocultivo incluso en ausencia de nitritos y leucocituria en el EGO, reactantes de fase aguda VSG, PCR, procalcitonina que serán de gran utilidad para sospecha de infecciones bacterianas, estudios de imagenología, tele de tórax y senos paranasales prácticamente de rutina, TAC y RM en casos indicados, los ensayos de diagnóstico molecular de ser posible y con buen criterio clínico.

Tratamiento

Es fundamental en el manejo del niño neutropénico febril el inicio rápido de antibióticos de amplio espectro porque el inicio posterior a las primeras horas se asocia con mayor morbilidad y mortalidad y las pautas de manejo deberán ser individualizadas y dependerán de gran manera de sus factores de riesgo y comorbilidades, especialmente daño renal y hepático, así como el manejo antimicrobiano previo, antecedentes de colonización, al tener resultados de cultivos deberá adaptarse a éstos.

Se recomienda de preferencia y de ser posible la monoterapia con antibióticos beta lactámicos de amplio espectro: ceftacidima 50-100 mg/kg IV c/8horas; cefipime 50-100 mg/kg c/8horas; meropenem 20-40 mg/kg c/8 horas; piperacilina tazobactam 100/200 mg/kg c/6-8 horas.

Las asociaciones deberán ser según criterios clínicos específicos como metronidazol en caso de sospecharse anaerobios.

Amioglucósidos: en caso de urosepsis, gramnegativos sensibles (o ambos) y tomando en cuenta su toxicidad renal y ótica.

Vancomicina sólo en caso de encontrar MRSA, se ha abusado de este antibiótico en forma empírica con el resultado de enterococos resistentes y nefrototoxicidad, sus indicaciones deberán adaptarse al riesgo individual.

Otros antibióticos como colistina, linezolid, daptomicina, etc. no serán de uso empírico.

En caso de persistir la fiebre más de 4 días deberá considerarse la etiología fúngica por lo que se recomienda iniciar estudio para estos cultivos en medios específicos (Sabureau), PCR de lesiones, no se recomienda de sangre, galactomano es específico para *Aspergillus* y beta D glucado no se ha recomendado para niños aún.

La terapia antimicótica deberá ser iniciada lo mas pronto posible.

Anfotericina liposomal o de dispersión coloidal, desoxicolato de anfotericina por ser menos tóxicas. Equinocandinas como caspofungina o micafungina.

Imidazoles como voriconazol, que no son mejores que las anteriores. La terapia deberá durar según la fiebre 48 horas de ceder y los hemocultivos sean negativos.

El factor primordial es aliviar la neutropenia por lo que la administración adecuada de factores estimulantes de colonias deberá ser primordial y de acuerdo con protocolos bien establecidos que caen fuera de mi experiencia como infectólogo, se lo dejo a criterio de los hematólogos pediatras, pero es fundamental para controlar la infección una cifra adecuada de neutrófilos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ahmed NM, Flynt PM. Up to date PDF 2019.
2. Freifeld AG, Blow EJ. CID 2011.
3. Lehrnbecher T, et al. J Clin Oncol 2017;35:16.
4. RG R, et al. Antib Agent Chemother 2014;58(7):3799.
5. AG F, Bow EJ. Clin Infect Dis 2011;52(4).
6. Instituto Nal Ex Salud 2012 Nice Org UK, cg151.
7. Lehrnbecher T. J Clin Oncol 2017;35-2082.

Administración de inhibidores PD-1/PDL-1 en linfoma de Hodgkin

Juan Francisco Zazueta-Pozos

Médico adscrito al servicio de Hematología, Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga, Ciudad de México.

El linfoma de Hodgkin representa 10% de todos los linfomas en todo el mundo. La incidencia anual reportada en Estados Unidos es de 9050 casos nuevos y alrededor de 2250 muertes se producen cada año debido a esta enfermedad.¹

A mediados del decenio de 1950, la supervivencia global de los pacientes con linfoma de Hodgkin era de alrededor de 10 a 15%, contrario a los resultados actuales, donde más de 80% de los pacientes logran curación con tratamiento a base de quimioterapia (ABVD/BEACOPP) con o sin radioterapia.² Sin embargo los resultados en pacientes con enfermedad resistente o en recaída (r/r) siguen siendo adversos. La terapia dirigida a este grupo de pacientes está representada por quimioterapia de segunda línea, seguida de dosis altas de quimioterapia y trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos. El escenario para pacientes que han recaído tras un trasplante autólogo (TAuCPH) es aún más sombrío. Las terapias disponibles en este contexto incluyen el anticuerpo monoclonal anti-CD30 conjugado, brentuximab vedotin, como terapia puente para la posterior realización de un segundo trasplante, principalmente de carácter alogénico.³ En la última década, la inmunoterapia ha surgido como una de las áreas de mayor interés en el campo de la investigación y ha mostrado actividad terapéutica importante en distintas enfermedades neoplásicas.⁴ El linfoma de Hodgkin clásico (LHc) es una neoplasia con patrón histológico poco común, porque las

células malignas de Reed-Sternberg se encuentran dispersas dentro de un infiltrado celular inflamatorio e inmune. A pesar que gran parte de ese infiltrado está representado por linfocitos T, existe evidencia de que la respuesta antitumoral e inmunitaria en contra de las células de Hodgkin es poco eficiente. Estudios recientes han mostrado que la supervivencia de las células de Hodgkin se encuentra ligada a la evasión de la inmunidad antitumoral bajo la vía proteica de muerte programada 1 (PD-1).⁵ Estudios preclínicos muestran que las células de Reed-Sternberg utilizan la vía PD-1 para evadir la detección por el sistema inmunitario. Las alteraciones en el cromosoma 9p24.1 se han relacionado con aumento en la expresión de ligandos PD-1 (PD-L1 y PD-L2). Ambos ligandos se acoplan al receptor PD-1 e inducen una cascada de señalización que se asocia con la inhibición reversible de la activación y proliferación de los linfocitos T.

Muenst y su grupo sugirieron que el aumento en la infiltración tumoral por linfocitos con expresión de PD-1 representa un factor de pronóstico adverso para la supervivencia global en pacientes con linfoma de Hodgkin.⁶ Así mismo, Paydas y colaboradores evaluaron 87 muestras de tejido de pacientes con linfoma de Hodgkin, demostrando que la coexpresión de PD-1 y PDL-1 estaba relacionada con menor supervivencia global.⁷

Los avances recientes en el entendimiento del microambiente tumoral, mecanismos de evasión e infiltración, han contribuido al desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas con alto impacto clínico. El punto de control PD1/PD-L1 es uno de los mecanismos más efectivos del linfoma de Hodgkin para evadir el sistema inmunitario. Por lo anterior, diversos estudios se han enfocado en el desarrollo de nuevas terapias

dirigidas a estas vías de señalización. El nivolumab, un anticuerpo contra el receptor de PD-1, fue el primer inhibidor del punto de control aprobado para el tratamiento de neoplasias hematológicas.⁸

En el estudio fase 1 Checkmate 039, 23 pacientes con linfoma de Hodgkin resistente o en recaída (r/r) con múltiples líneas de tratamiento previo, incluido trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos en 78% de los casos, recibieron una dosis inicial de nivolumab de 3 mg/kg cada dos semanas. La tasa de respuesta global en ese ensayo fue de 87%, con 19% de respuestas completas y 74% de respuestas parciales. Asimismo, se reportó una tasa libre de progresión de 46%. En el contexto de linfoma de Hodgkin r/r, con más de 3 líneas de tratamiento previo en 87% de los pacientes, estos resultados dieron a pie al inicio de una nueva alternativa terapéutica para pacientes que previamente carecían de tratamientos dirigidos.⁹

El segundo estudio con nivolumab es el Checkmate 205, un ensayo clínico fase 2 que evaluó cuatro cohortes distintas de pacientes con linfoma de Hodgkin.

La primera cohorte incluyó 63 pacientes con LHC r/r, vírgenes a brentuximab vedotin (BV), pero quienes previamente habían recibido un TAUCPH. En dicha cohorte, la tasa de respuesta global (ORR) fue de 68%, con 22% de respuestas completas y 46% de respuestas parciales. La mediana de supervivencia libre de progresión fue de 11 meses.¹⁰

La segunda cohorte de ese estudio incluyó a 80 pacientes con LHC en recaída/resistentes, quienes recibieron nivolumab tras haber recibido BV y TAUCPH. La mediana de terapias previo a la inclusión fue de 4, con intervalo de 3 a 15. La ORR fue de 66% (9% RC y 58% PR). La mediana de supervivencia fue de 15

meses.¹¹ Estos resultados llevaron a la aprobación de nivolumab como terapia para pacientes con LHC r/r tras TAUCPH y BV.

Dentro del estudio Checkmate 205, la tercera cohorte de pacientes evalúa la administración de nivolumab con terapia de mantenimiento hasta la progresión de la enfermedad. A los 6 meses de seguimiento, la mediana de supervivencia libre de progresión fue de 77%. Cabe destacar que ese estudio ha reclutado a más de 100 pacientes hasta el momento.

Adicionalmente, la administración de los inhibidores del punto de control PD-1 como terapia de primera línea en combinación, está siendo evaluada en múltiples estudios. El estudio Checkmate 205 evalúa la administración de 6 ciclos de nivolumab en combinación con quimioterapia (doxorubicina, vinblastina y dacarbazina) en pacientes con LHC avanzado. Los resultados de ese estudio se encuentran pendientes de publicación (NCT02181738).

El estudio NIVAHIL es un ensayo fase 2 que de igual manera evalúa el papel de la adición de nivolumab a la quimioterapia AVD (se omite la exposición a bleomicina) de primera línea en pacientes con LHC con etapas tempranas desfavorables. Este estudio está diseñado para comparar 4 ciclos de nivolumab con AVD, seguido de radioterapia a campo implicado contra 4 ciclos de nivolumab seguido de 2 ciclos de AVD más nivolumab, seguido de 2 ciclos de AVD y finalmente radioterapia a campo implicado.

El pembrolizumab es un anticuerpo IgG4 humanizado dirigido en contra de PD-1 y, al igual que el nivolumab, bloquea la unión con ambos ligandos (PD-L1 y PD-L2).¹² La aprobación del pembrolizumab en pacientes con LHC r/r se obtuvo tras los resultados publicados por el ensayo fase 2, Keynote-087, que

evaluó a 210 pacientes y mostró tasa de respuesta global de 69%, con 22% de respuestas completas y 47% de respuestas parciales. La dosis establecida en ese ensayo fue de 200 mg cada 3 semanas. Al igual que en el estudio Checkmate, el estudio Keynote 087 tuvo un diseño basado en distintas cohortes de pacientes. Inicialmente el estudio evaluó una cohorte de 69 pacientes, quienes habían recaído tras TAUCPH y terapia subsecuente con BV. Todos los pacientes recibieron una dosis fija de 200 mg cada 3 semanas. El ensayo reportó tasa de respuesta global de 66.7%, con 29% de respuestas completas. Todos los pacientes habían recibido al menos 3 líneas de tratamiento previo a su reclutamiento.¹³

En 81 pacientes no aptos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos por enfermedad resistente a rescate con quimioterapia, el estudio evaluó la respuesta a pembrolizumab tras falla a terapia con BV. En esta población en específico, la tasa de respuesta global reportada fue de 65.4%, con resultados similares a los previamente reportados en pacientes con múltiples líneas de tratamiento previo (TAUCPH y BV).

Actualmente se llevan a cabo múltiples estudios que incorporan los inhibidores del punto de control como parte de terapias tempranas e inclusive en el contexto de tratamientos libres de quimioterapia. En la reunión de ASH 2016, el grupo de Herrera presentó resultados preliminares de un ensayo fase 1/2 con BV en combinación con nivolumab como primera terapia de rescate previo a una TAUCPH en pacientes con LHC r/r.¹⁴ Estos resultados fueron equiparables a los reportados por Diefenbach durante la misma reunión. Ambos estudios reportaron una tasa de respuesta global del 100%. Estos resultados son superiores a los otorgados actualmente por

las distintas estrategias terapéuticas de rescate en pacientes con LHC r/r. El único ensayo fase 3 aleatorizado que compara directamente dos terapias eficaces en el tratamiento de LHC r/r (pembrolizumab vs BV) es la actualización del estudio Keynote 204. Los resultados de este estudio permitirán evaluar el papel y momento idóneo para la administración de las nuevas terapias dirigidas.

La era de la inmunoterapia trae consigo nuevos planteamientos durante su implementación para el tratamiento de distintas neoplasias. Los efectos secundarios de la monoterapia o la combinación de inhibidores del punto de control es un tema que ha surgido recientemente. Los estudios Checkmate 039 y el Keynote 013 establecieron excelentes perfiles de toxicidad y tolerabilidad de nivolumab y pembrolizumab, respectivamente. El estudio Checkmate 039 reportó incidencia de 78% de eventos adversos y 22% de ellos fueron clasificados como grado 3. En el ensayo Checkmate 205, los eventos adversos grado 3/4 más comunes fueron: incremento en la concentración de lipasa (8%), neutropenia (5%) e incremento en transaminasas (4%). Los eventos más graves descritos fueron pirexia, neumonía, arritmia, reacción infusional y meningitis, todos con incidencia menor a 4%. De igual forma, el estudio Keynote 013 con pembrolizumab reportó incidencia de 16% de eventos adversos.¹² Los nuevos agentes como el brentuximab vedotin y los inhibidores del punto de control han revolucionado el tratamiento de los pacientes con LHC cuyas opciones terapéuticas tras el diagnóstico de enfermedad resistente o en recaída eran bastante limitadas. Los múltiples resultados hasta ahora reportados por los distintos ensayos permiten plantear en un futuro un cambio en el tratamiento de primera línea en pa-

cientes con LHC, lo que significaría un cambio relevante en el manejo de estos pacientes. Probablemente estos resultados permitan establecer el papel de los inhibidores del punto de control, su toxicidad a largo plazo, tolerabilidad y a la larga permitan revelar en qué momento es seguro suspenderlos. El costo de estos tratamientos, actualmente aprobados hasta progresión de la enfermedad, es uno de las mayores barreras para su acceso e implementación en los sistemas de salud.

REFERENCIAS

1. Salati M, Cesaretti M, Macchia M, et al. Epidemiological Overview of Hodgkin Lymphoma across the Mediterranean Basin. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2014;6(1).
2. Fermé C, Eghbali H, Meerwaldt JH, et al. Chemotherapy plus involved-field radiation in early Hodgkin's disease. *N Engl J Med* 2007;357:1916-27.
3. Goodman A, Patel SP, Kurzrock R. PD-1-PD-L1 immune-checkpoint blockade in B-cell lymphomas. *Nat Rev Clin Oncol* 2017;14:203-20.
4. Merryman, Armand P, Wtigh KT, et al. Checkpoint blockade in Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma. *Blood Advances* 2017;2643-2654.
5. Armand P, Shipp MA, Ribrag V, et al. PD-1 blockade with pembrolizumab in patients with classical Hodgkin lymphoma after brentuximab vedotin failure. *J Clin Oncol* 2016;34:3733-3739.
6. Muenst S, Hoeller S, Dirnhofer S, et al. Increased programmed death-1+tumor-infiltrating lymphocytes in classical Hodgkin lymphoma substantiate reduced overall survival. *Hum Pathol* 2009;40:1715-22.
7. Paydas S, Bağır E, Seydaoglu G, et al. Programmed death-1 (PD-1), programmed death-ligand 1 (PD-L1), and EBV-encoded RNA (EBER) expression in Hodgkin lymphoma. *Ann Hematol* 2015;94:1545-52.
8. Ansell SM. Nivolumab in the treatment of Hodgkin lymphoma. *Clin Cancer Res* 201;23:1623-1626.

9. Ansell SM, Lesokhin AM, Borrello I, et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2015;372(4):311-319.
10. Timmerman JM, Engert A, Younes A, et al. Checkmate 205 Update with Minimum 12-Month Follow up: A Phase 2 Study of Nivolumab in Patients with Relapsed/Refractory Classical Hodgkin Lymphoma. *Blood* 2016;128(22):1110.
11. Younes A, Santoro A, Shipp M, et al. Nivolumab for classical Hodgkin's lymphoma after failure of both autologous stem cell transplantation and brentuximab vedotin: a multicentre, multicohort, single-arm phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2016;17(9):1283-1294.
12. Maly J, Alinari L. Pembrolizumab in classical Hodgkin's Lymphoma. *Eur J Haematol*. 2016;97(3):219-227.
13. Moskowitz CH, Zinzani PL, Fanale MA, et al. Pembrolizumab in relapsed/refractory classical Hodgkin lymphoma: primary end point analysis of the phase 2 Keynote-087 Study. *Blood* 2016;128(22):1107.
14. Herrera AF, Bartlett NL, Ramchandren R, et al. Preliminary results from a phase 1/2 study of brentuximab vedotin in combination with nivolumab in patients with relapsed or refractory Hodgkin lymphoma. *Blood* 2016;128:1105.

Mielofibrosis, una enfermedad poco diagnosticada

Regina García-Delgado, María García-Fortes

Servicio de Hematología, Hospital Virgen de la Victoria, Málaga, España.

La mielofibrosis primaria (MFP) es una neoplasia mieloproliferativa (NMP) que se caracteriza por la expansión clonal de una célula madre pluripotente que origina una proliferación predominante de precursores megacariocíticos y granulocíticos en la médula ósea (MO). Durante el desarrollo de la enfermedad, las citocinas liberadas

por megacariocitos, histiocitos y monocitos clonales provocan un depósito reactivo de *tejido fibroblástico policlonal*, con la consiguiente fibrosis, neoangiogénesis y osteosclerosis. Esto conduce a la reducción del tejido hematopoyético normal y a la hematopoyesis extramedular o metaplasia mieloide en diversos órganos, especialmente en el bazo. La MFP (antes denominada mielofibrosis idiopática crónica, metaplasia mieloide agnógena o mielofibrosis con metaplasia mieloide) forma parte, junto con la policitemia vera (PV) y la trombocitemia esencial, de las NMP Philadelphia negativas (Ph⁻). Cursa con una fase inicial prefibrótica, que debe diferenciarse de la TE, definida por una médula ósea hiperclonal asociada con una mínima fibrosis reticulínica. En esta fase, se detecta en el hemograma una discreta leucocitosis o trombocitosis. La fase avanzada de la enfermedad o fase fibrótica permite comprobar la reducción de la celularidad hematopoyética junto a la fibrosis reticulínica o colágena, y a menudo osteosclerosis en la biopsia de médula ósea. La citomorfología en sangre periférica muestra anisopoiquilocitosis (dacriocitos) y leucoeritroblastosis.

La MFP, en ausencia de marcador clonal, debe diferenciarse de mielofibrosis secundarias a otras enfermedades hematológicas (PV, TE, síndromes mielodisplásicos, tricoleucemia) o no hematológicas (infecciones, inflamaciones crónicas, trastornos autoinmunitarios, neoplasias con metástasis medular). La incidencia de MFP se estima entre 0.4 y 1.4 casos nuevos al año por 100,000 habitantes. Ocurre con mayor frecuencia en la sexta y séptima décadas de la vida, aunque existen casos erráticos infantiles y hasta 15% de pacientes son menores de 50 años.

Entre las causas de muerte se incluye la progresión a leucemia aguda, que

puede ocurrir entre 5 y 20% de los pacientes. Sin embargo, la mayor parte de las muertes son derivadas de la comorbilidad asociada, sobre todo los eventos vasculares (insuficiencia cardíaca o embolismo pulmonar), la hematopoyesis extramedular (insuficiencia hepática, insuficiencia renal o hipertensión portal) y las citopenias (infección o sangrado).

Criterios diagnósticos

El diagnóstico actual se establece en función de la última revisión de la WHO 2016 y comprende una serie de criterios clínicos, analíticos y morfológicos a los que hay que añadir los cada vez más importantes criterios moleculares:

Mielofibrosis en fase inicial/prefibrótica (Cuadro 1)

Mielofibrosis en fase establecida (Cuadro 2)

Mielofibrosis post-policitemia vera y post-trombocitemia esencial (Cuadro 3)

El diagnóstico histopatológico

La mielofibrosis primaria (MFP) es una neoplasia mieloproliferativa (NMP) con características histopatológicas específicas en la biopsia de médula ósea (MO) que constituyen el primero de los criterios mayores enunciados por la OMS (2008) para su diagnóstico.

La biopsia de médula ósea

Es conveniente que el cilindro de médula ósea mida al menos 1.5 cm e incluya diez espacios intertrabeculares. La biopsia debe estar tomada en ángulo recto con respecto a la cortical del hueso y hay que fijarla adecuadamente y con prontitud. La descalcificación es un paso crítico que exige la optimización del líquido descalcificante y un control estrecho del proceso.

Los cortes histológicos no deben tener más de 3-4 μ y las tinciones que se realizan de rutina son: HE,

Cuadro 1. Mielofibrosis en fase inicial/prefibrótica

Criterios mayores (se requiere la presencia de todos ellos)
1. Biopsia medular con proliferación de megacariocitos atípicos, sin fibrosis reticulínica > grado 1*, con incremento en la celularidad medular ajustada según la edad, proliferación granulocítica y con disminución de la eritropoyesis en muchos casos.
2. No cumplir los criterios de la OMS para LMC <i>BCR-ABL1+</i> , PV, TE, síndromes mielodisplásicos u otras neoplasias mieloides.
3. Demostración de mutación de <i>JAK2</i> , <i>CALR</i> o <i>MPL</i> o, en ausencia de estas mutaciones, presencia de otro marcador clonal** o ausencia de leve fibrosis reticulínica medular reactiva***
Criterios menores (se requiere al menos 1)
a. Anemia no atribuible a comorbilidad.
b. Leucocitosis $\geq 11 \times 10^9/L$.
c. Esplenomegalia palpable.
d. Aumento de la concentración de lactodeshidrogenasa (LDH) sérica por encima del valor superior normal de referencia para cada centro.

Cuadro 2. Mielofibrosis en fase establecida

Criterios mayores (se requiere la presencia de todos ellos)
1. Biopsia medular con proliferación de megacariocitos atípicos, acompañada de fibrosis reticulínica y/o colágena grados 2 ó 3*
2. No cumplir criterios de la OMS para TE, PV, <i>LMC BCR-ABL1+</i> , síndromes mielodisplásicos u otras neoplasias mieloides.
3. Demostración de mutación de <i>JAK2</i> , <i>CALR</i> ó <i>MPL</i> o, en ausencia de estas mutaciones, presencia de otro marcador clonal** o ausencia de fibrosis medular reactiva***
Criterios menores (se requiere al menos 1, confirmado en 2 determinaciones consecutivas)
a. Anemia no atribuible a comorbilidad.
b. Leucocitosis $\geq 11 \times 10^9/L$.
c. Esplenomegalia palpable.
d. Aumento de la concentración de LDH sérica por encima del valor superior normal de referencia para cada centro.
e. Síndrome leucoeritroblástico en sangre periférica.

Giemsa (proporciona mejor detalle nuclear que la HE), PAS (que al teñir sus citoplasmas ayuda a identificar megacariocitos de pequeño tamaño), una técnica de impregnación argéntica para valorar la fibrosis y la tinción de Perls para la demostración de los depósitos férricos. El examen histopatológico debe comenzar con una valoración de la calidad de la biopsia en su conjunto y la estimación, en función de la edad del paciente, de si es normo, hipo o hiper celular.

Características histopatológicas de la MFP

Los rasgos histopatológicos a considerar son: las líneas celulares que participan en la proliferación clonal, el número, morfología y distribución de los megacariocitos y los cambios en el estroma (grado y tipo de fibrosis, proliferación vascular y osteosclerosis). *Estadio prefibrótico.* La médula ósea es hiper celular, con aumento de las series granulocítica (predominio de elementos maduros) y megacariocítica, y disminución de la eritropoyesis. Los megacarioci-

Cuadro 3. Mielofibrosis post-policitemia vera y post-trombocitemia esencial

MF post-PV		MF post-TE
A1- Diagnóstico previo de PV (según criterios OMS) y A2- Fibrosis medular*	Criterios obligatorios	A1- Diagnóstico previo de TE (según criterios OMS) y A2- Fibrosis medular*
+		+
B1- Anemia**		B1- Anemia (disminución de la Hb basal > 2g/dL)
B2- Síndrome leucoeritroblástico	Criterios adicionales: se requieren ≥ 2	B2- Síndrome leucoeritroblástico
B3- Aumento ≥ 5 cm de la esplenomegalia previa o aparición de esplenomegalia palpable		B3- Aumento ≥ 5 cm de la esplenomegalia previa o aparición de esplenomegalia palpable
B4- Aparición de ≥ 1 síntomas constitucionales***		B4- Aparición de ≥ 1 síntomas constitucionales***
		B5- Aumento de LDH (> v.n.)

* Fibrosis medular de grado 2-3 (en escala 0-3) o grado 3-4 (en escala 0-4).

** Anemia o disminución mantenida de flebotomías (en ausencia de tratamiento citorreductor) o de tratamiento citorreductor para la eritrocitosis.

*** > 10% de pérdida de peso en 6 meses, sudación nocturna, fiebre no explicable (> 37.5°C).

tos, que se disponen en agregados densos próximos a los senos y a las trabéculas óseas, son de tamaño variable, pero todos tienen escaso citoplasma (relación núcleo/citoplasma aumentada) como signo de defecto madurativo. El núcleo es hiper cromático e hipolobulado, con un contorno globuloso que se ha comparado con la morfología de una “nube densa”. No son infrecuentes los megacariocitos desnudos (sin citoplasma). En general, son los megacariocitos más atípicos de todas las NMP. Por definición, no hay fibrosis reticulínica (grado 0) o es mínima (grado 1).

Estadio fibrótico. La fibrosis, de grado 2 o 3 y los megacariocitos atípicos dominan el cuadro histológico, junto con la proliferación de senos vasculares tortuosos y dilatados. La médula ósea es normo o hipocelular, y no es difícil reconocer focos de células inmaduras (CD34+). Los megacariocitos, con los rasgos citológicos ya comentados, se disponen, alineados por la fibrosis, como si fluyeran (*stream*) por una corriente a lo largo de la biopsia, o en la luz de los senos dilatados; este último es un rasgo morfológico muy característico, aunque no patognomónico, de MFP. La fase avanzada de este estadio fibrótico se denomina *osteosclerótica* y se caracteriza por el ensanchamiento irregular de las trabéculas óseas, que reducen ostensiblemente los espacios intertrabeculares.

Valoración del grado de fibrosis

Una valoración correcta del grado de fibrosis de la médula ósea es quizá la aportación más importante del patólogo al diagnóstico de las NMP. Para ello es esencial contar con una biopsia adecuada y seguir algunas recomendaciones básicas: a) se debe evaluar la calidad de la tinción de plata observando las redes vasculares a modo de control

interno; b) sólo se deben valorar las áreas hematopoyéticas, sin considerar las áreas adiposas, las paredes vasculares ni los folículos linfoides, y c) se deben incluir las áreas de escleredema y las zonas cicatriciales en la estimación global. Para la valoración semicuantitativa de la fibrosis medular se emplean los criterios europeos consensados, que establecen los grados mostrados en el **Cuadro 4**.

Cuadro 4.

Grado	Descripción
MF-0	Reticulina lineal dispersa sin intersecciones (<i>crossovers</i>) que corresponde a la BMO normal.
MF-1	Entramado laxo de reticulina con muchas intersecciones, especialmente en zonas perivasculares
MF-2	Aumento difuso y denso de reticulina con amplias intersecciones, ocasionalmente con bandas focales de fibras gruesas principalmente consistentes con colágeno, osteosclerosis focal o ambos**
MF-3	Aumento difuso y denso de reticulina con amplias intersecciones y haces gruesos de fibras gruesas consistentes con colágeno, por lo general asociado con osteosclerosis**

* La densidad de fibras deberá determinarse sólo en áreas hematopoyéticas.

** Se recomienda una tinción adicional de tricómico en los grados MF2 y MF3.

Diagnóstico diferencial histopatológico

Entre las NMP, el diagnóstico diferencial entre MFP en estadio prefibrótico, la trombocitemia esencial (TE) y la policitemia vera (PV) se realiza gracias a la integración de los datos clínicos, analíticos, histopatológicos y genéticos. Sin embargo, cada una

de estas neoplasias tiene rasgos morfológicos propios, incluidos por la OMS en su versión de 2008 entre los criterios diagnósticos necesarios, que el patólogo debe reconocer y aportar en su informe para contribuir al diagnóstico final integrado.

Estudio inmunohistoquímico

El estudio inmunohistoquímico de la biopsia de MO tiene poca relevancia en el diagnóstico de MFP, aunque la tinción con CD61 puede facilitar la identificación de megacariocitos de pequeño tamaño. Con CD34 se detecta un ligero incremento de progenitores en las fases iniciales de la MFP, mucho antes de su aparición en sangre periférica, un rasgo este último exclusivo de MFP bien establecidas.

Recientemente (Ponce et al, 2012) encontraron diferencias significativas en la expresión del anticuerpo policlonal c-MPL contra el receptor de la trombopoyetina en biopsias de pacientes con MFP en estadio prefibrótico y TE, un hallazgo que podría ser útil en el diagnóstico diferencial de ambas entidades.

Criterio para el diagnóstico histopatológico de la fase acelerada de la MFP

En pacientes ya diagnosticados de MFP, la demostración en la biopsia de médula ósea del incremento significativo de células CD34+ formando agregados, con distribución anormal o ambas situaciones es indicativa de la fase acelerada de la enfermedad. La transformación aguda o fase blástica de la MFP se define por la presencia de al menos 20% de blastos en sangre periférica.

El diagnóstico molecular

Mutaciones en el gen JAK2: mutación V617F y mutaciones en el exón 12

La mutación JAK2V617F se detecta en 90-95% de pacientes con PV,

60% de pacientes con TE y 60% de pacientes con MFP. La existencia de la mutación JAK2V617F fue incorporada por la OMS en 2008 como criterio diagnóstico mayor en estas tres entidades (ver apartado de criterios diagnósticos) y se ha mantenido en la revisión publicada en 2016. Se han descrito también mutaciones en el exón 12 de JAK2 en casos de PV y eritrocitosis idiopática negativas para JAK2V617F. No se han observado mutaciones del exón 12 de JAK2 en casos de PV que presenten la mutación JAK2V617F, ni en pacientes con TE o MFP.

Mutaciones en CALR

A finales de 2013 se describieron mutaciones en el gen CALR que codifica la proteína calreticulina. Las mutaciones detectadas en CALR consisten en deleciones e inserciones que afectan al último exón del gen (exón 9) y que provocan un truncamiento prematuro de la proteína. Las mutaciones más frecuentes son la mutación tipo 1 que consiste en una delección de 52 pb (CALR c.1092_1143del; p.L367fs*46) y la mutación tipo 2 que consiste en una inserción de 5 pb (CALR c.1154_1155insTTGTC; p.K385fs*47). Estas dos mutaciones se detectan en más de 80% de los pacientes que presentan el gen CALR mutado.

Las mutaciones de CALR se han descrito en 50-70% de los pacientes con TE y MFP que no presentan ni mutaciones en el gen JAK2 ni en el gen MPL, con los que son mutuamente excluyentes. En la revisión de la clasificación de NMP de la OMS publicada en 2016, la detección de mutaciones en CALR se ha incorporado como criterio diagnóstico mayor de TE y MFP.

Mutaciones en MPL

Se han descrito diversas mutaciones en las NMP que afectan al gen que codifica el receptor de la

trombopoyetina, MPL y provocan una ganancia de función mediante activación constitutiva de la vía de transducción de señales dependiente de este receptor. Estas mutaciones se producen en el exón 10 del gen y afectan principalmente al aminoácido 515 y en menor frecuencia al 505. Las alteraciones descritas en esta región (W515K, W515L, W515A, S505N) se han descrito en 5% de MFP y en 1-3% de TE, que puede llegar a 8-15% si únicamente se consideran los casos negativos para JAK2V617F.

El análisis de las mutaciones en el exón 10 de MPL se considera de utilidad en el diagnóstico de la TE y la MFP en los pacientes que no presentan ni la mutación JAK2V617F, ni mutaciones en el gen CALR.

Recientemente se ha descrito la existencia de mutaciones fuera del exón 10, principalmente en los exones 4 y 5 del gen MPL, en pacientes con TE triple negativa.

Caracterización molecular de las NMP

El análisis del estado mutacional de JAK2, CALR y MPL se realiza habitualmente a partir de sangre periférica, ya sea sangre total o granulocitos purificados. También puede determinarse en aspirados de médula ósea o en progenitores hematopoyéticos obtenidos por cultivos celulares *in vitro*.

Debido a que las alteraciones en estos genes son, en general, mutuamente excluyentes, la caracterización molecular se realiza de forma secuencial.

Otras mutaciones descritas en neoplasias mieloproliferativas Ph negativas

En los últimos años y con el desarrollo de las nuevas tecnologías de secuenciación masiva (NGS) se han podido identificar mutaciones somáticas en genes implicados en señalización, regulación epige-

nética y en el procesamiento del ARN (*splicing*) en las NMP. Estas mutaciones pueden aparecer antes que la mutación conductora, como sucede en algunas ocasiones con TET2, o hacerlo posteriormente.

Los estudios de NGS en NMP han demostrado que mutaciones en JAK2, MPL y CALR pueden coexistir con mutaciones en genes que codifican para proteínas reguladoras de procesos epigenéticos (como TET2, DNMT3A, ASXL1, EZH2, e IDH1/IDH2) y proteínas implicadas en el *splicing* del ARN mensajero (como SRSF2, U2AF1 y SF3B1). También se han descrito mutaciones en otros genes como TP53, RUNX1 o CBL que se relacionan con la progresión a leucemia aguda.

En contraste con las mutaciones conductoras o *driver* (JAK2, MPL y CALR) que son raras en otras enfermedades, las mutaciones en genes no conductores (*non-driver*) no son específicas de NMP y se encuentran en otras neoplasias mieloides (SMD, SMD/NMP y leucemia aguda). En las NMP se detectan en más de 80% de las MFP mutaciones de los reguladores epigenéticos o componentes de la maquinaria de *splicing*, en contraste con una incidencia inferior en el resto de NMP. Además, en aproximadamente 50% de las MFP estas mutaciones aparecen asociadas entre sí.

El número de mutaciones adquiridas también es importante. Diversos estudios concluyen que el pronóstico de la MFP depende principalmente del tipo y número de mutaciones en los reguladores epigenéticos y genes de la maquinaria de *splicing* (2 o más mutaciones empeoran claramente el pronóstico). En este sentido existen propuestas de clasificaciones de pronóstico que incluyen como mutaciones de significado adverso las alteraciones en los genes SRSF2 y ASXL1, pero todavía deben validarse clínicamente.

En conclusión, el desarrollo de las técnicas de secuenciación nos ha permitido identificar mutaciones adicionales a las conductoras en las NMP, pero aún queda por establecer qué mutaciones son relevantes, cuál es su significado pronóstico y cuál es el mejor método de análisis para incorporarlas en la práctica clínica.

Recomendaciones para el estudio molecular de las NMP Ph.

Determinación de JAK2V617F

- Todos los casos con sospecha de NMP.
- Es necesario que el ensayo utilizado para detectar la mutación tenga sensibilidad de 1-3%.
- Un resultado positivo confirma el diagnóstico de NMP, pero no informa del subtipo.
- Un resultado negativo no excluye el diagnóstico de una NMP.
- Estudio de mutaciones exón 12 JAK2
- Sólo en los casos JAK2V617F negativos con sospecha clínica de PV.
- Estudio de mutaciones exón 9 CALR
- Sólo en los casos JAK2V617F negativos con sospecha de MFP o TE.
- Estudio de mutaciones exón 10 MPL
- Sólo en los casos JAK2V617F negativos y CALR negativos con sospecha de MFP o TE.
- Nuevos genes (TET2, ASXL1, EZH2, SRSF2, SF3B1, etc.)
- Su papel diagnóstico/pronóstico está en proceso de confirmación.

La **Figura 1** muestra un algoritmo de las técnicas de biología molecular aplicables al diagnóstico.

Conclusiones

Resulta conocida la existencia de cierto grado de solapamiento entre NMP en fases iniciales.

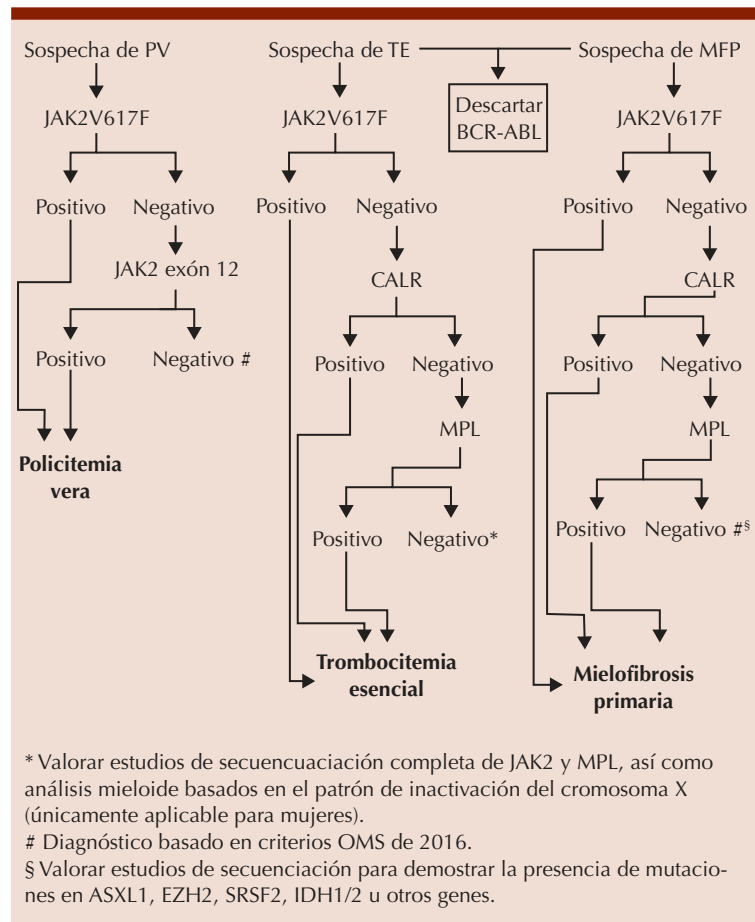


Figura 1. Algoritmo de las técnicas de biología molecular aplicables al diagnóstico.

Especialmente importante resulta la distinción entre TE y MFP en fase prefibrótica, hasta el punto de que la demostración de la existencia de fibrosis reticulínica no es mandatoria para el diagnóstico de la MFP en fase prefibrótica.

Por otra parte, el diagnóstico de TE sin el adecuado examen de las muestras de biopsia medular puede generar una cohorte heterogénea de pacientes privados de un manejo clínico adecuado.

Diagnóstico diferencial de citopenias idiopáticas

Esperanza Barrera-Chairez

Médico Adscrito al Servicio de

Hematología, Hospital Civil de Guadalajara Fray Antonio Alcalde, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, México.

El término citopenia se refiere a una condición en la que una o más líneas hematopoyéticas muestran cuentas anormalmente bajas. Los criterios establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) difieren entre: las condiciones normales con hemoglobina (Hb) ≥ 12 g/dL en mujeres, ≥ 13 g/dL en varones, cuenta absoluta de neutrófilos (ANC) $\geq 1.8 \times 10^9/L$ y cuenta de plaquetas (Ptl) $\geq 150 \times 10^9/L$; a la definición de citopenias (Hb

< 12 g/dL en mujeres, < 13 g/dL en varones, ANC < $1.8 \times 10^9/L$ y Ptl < $150 \times 10^9/L$; síndromes mielodisplásicos (SMD): Hb < 10 g/dL, ANC < $1.8 \times 10^9/L$ y Ptl < $100 \times 10^9/L$, y citopenia idiopática de significado indeterminado (ICUS): Hb < 11 g/dL, ANC < $1.5 \times 10^9/L$ y Ptl < $100 \times 10^9/L$.^{1,2}

Las citopenias son una alteración relativamente común en la práctica médica diaria y uno de los motivos más frecuentes de consulta hematológica. Las citopenias no son en sí una enfermedad, sino más bien un hallazgo de procesos patológicos que afectan la médula ósea o las células periféricas. Puede manifestarse con síntomas relacionados con anemia, leucopenia, trombocitopenia o ser un hallazgo incidental en un estudio de rutina. En muchos casos, la causa de la citopenia es obvia y no se dificulta establecer el diagnóstico correcto en la primera evaluación. Sin embargo, en otras situaciones, especialmente en pacientes viejos, puede estar presente más de una causa que contribuye a la aparición de la citopenia, aun en ausencia de comorbilidades conocidas, representando un desafío diagnóstico. El seguimiento de estos pacientes puede revelar infecciones crónicas, hemólisis moderada, un defecto endógeno en la producción de eritropoyetina con o sin daño en la función excretora renal; una prefase de un SMD, alguna enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria oculta u otra alteración subyacente de la médula ósea. Tradicionalmente las citopenias se han clasificado como relacionadas con deficiencias nutricionales u hormonales, mediadas por mecanismos inmunitarios, daño medular o citopenias idiopáticas. Cuando los criterios de citopenia son cubiertos y otras causas se han eliminado con certeza sin llegar a un diagnóstico durante la investigación, incluyendo para ello el examen de médula ósea, se

clasifican como citopenia idiopática de significado indeterminado (desconocido, incierto). El algoritmo diagnóstico para pacientes con citopenia moderada "inexplicable" requiere múltiples pasos y frecuentemente es multidisciplinario.^{1,3}

El abordaje inicial de pacientes con citopenia crónica moderada requiere una historia detallada para excluir eventos potencialmente mutagénicos, exposición a tóxicos, ingesta de alcohol o drogas, enfermedades infecciosas conocidas, incluyendo hepatitis, virus de Epstein-Barr y VIH. Las causas más frecuente de citopenias crónicas en el mundo occidental son las afecciones hepáticas, enfermedades inflamatorias crónicas y deficiencias nutricionales de hierro, ácido fólico, vitamina B₁₂, cobre y otros nutrientes, relacionados con baja ingesta y más recientemente con cirugías bariátricas.^{1,3}

En la primera evaluación del paciente con citopenia crónica moderada, además de los parámetros iniciales en la biometría hemática, recuento celular y frotis de sangre periférica, se deben realizar estudios generales incluyendo serologías virales, concentraciones de vitamina B₁₂, ácido fólico, eritropoyetina sérica, citometría de flujo en sangre periférica (ante la sospecha de hemoglobinuria paroxística nocturna) y reordenamiento de receptores de células T clonales (TCR) [si se piensa en leucemia de linfocitos grandes granulares de células T] entre otros, que pueden ayudar a establecer el diagnóstico certero. Sin embargo, el estudio diagnóstico clave es la evaluación de la médula ósea para tratar de identificar la causa de la citopenia. Además del examen citológico y morfológico de la médula, es deseable realizar análisis histológico e inmunohistoquímico, estudio cromosómico, FISH y de ser posible citometría de flujo principalmente ante la sospecha de malignidad hematológica o SMD.^{1,4}

En pacientes con enfermedades autoinmunitarias como artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, psoriasis y síndrome de Sjögren primario, las citopenias son un hallazgo frecuente y potencialmente grave, con riesgo aumentado de enfermedades linfoproliferativas y eventualmente SMD.⁵ Los SMD y las citopenias autoinmunitarias (anemia hemolítica autoinmunitaria, trombocitopenia autoinmunitaria y neutropenia autoinmunitaria) comparten características fisiopatológicas comunes. La existencia de una reacción autoinmunitaria contra los precursores medulares se ha descrito en citopenias autoinmunitarias resistentes o en recaída, que pueden ser clínica y morfológicamente indistinguibles o contribuir en su evolución a la aparición de citopenias idiopáticas/dislusia idiopática de significado indeterminado (IDUS) o síndrome de insuficiencia medular.⁶

El término citopenia idiopática de significado indeterminado (ICUS) se estableció como una nueva entidad basada en la dificultad para diagnosticar SMD de bajo riesgo en pacientes con citopenia moderada. Posteriormente se definieron los criterios mínimos para la separación de los SMD, ICUS así como de IDUS.⁷ Recientemente se establecieron las recomendaciones para definir los criterios diagnósticos en la práctica clínica, caracterizando la ICUS por citopenia constante asilada/inexplicable, sin displasia o con menos de 10% en las células de médula ósea y la IDUS con marcada displasia en más de 10% de células en médula ósea pero sin o solo moderada citopenia.^{7,8} Estas condiciones son difíciles de reconocer dado que la identificación de displasia no siempre es reproducible aun entre hematopatólogos expertos, por lo que sólo pocos reportes de ICUS/IDUS se han publicado y se conoce poco en

relación con su fisiopatología, historia natural y factores predictores para el pronóstico.⁶

Recientemente se incorporaron los términos citopenia clonal de significado indeterminado (CCUS) y hematopoyesis clonal de potencial indeterminado (CHIP), en las que se observan mutaciones somáticas en las células de la médula ósea sin que se cubran otros criterios de neoplasias hematológicas. Su prevalencia aumenta con la edad (~ 10% entre personas mayores de 70 años) y se relaciona con pacientes sometidos a estudios genéticos moleculares en médula ósea o sangre periférica para diagnóstico de citopenia. Estas entidades se asocian con riesgo incrementado de transformación a neoplasias hematológicas (0.5-1% por año), similar al porcentaje de evolución descrito para condiciones benignas como gammapatía monoclonal de significado incierto (MUGS) y linfocitosis B monoclonal.⁶ Todas estas condiciones (ICUS, IDUS, CCUS Y CHIP) representan una prefase potencial de un SMD (**Cuadro 1**) y se han diferenciado como: 1) estados citopénicos (ICUS

y CCUS) y estados no citopénicos (IDUS y CHIP) y 2) estados con mutaciones negativas o desconocidas (ICUS y IDUS) o casos con mutaciones somáticas conocidas (CHIP y CCUS), documentadas y relevantes. Se ha observado que estas alteraciones pueden progresar a SMD después de un periodo variable, pero también preceder otras neoplasias hematológicas (mieloide o linfoides) o permanecer estables sin manifestaciones clínicas y sin evolucionar a una enfermedad neoplásica o no neoplásica, después de un seguimiento por años en los pacientes afectados.^{9,10}

Los SMD son un grupo de neoplasias clonales de la médula ósea caracterizados por hematopoyesis ineficaz, manifestaciones morfológicas de displasia en las células hematopoyéticas y citopenias en sangre periférica. Aun cuando el umbral para definir la displasia implica por lo menos 10% de células displásicas en cualquier línea hematopoyética, se ha observado displasia de 10% en individuos sanos y muy frecuentemente en citopenias de causas no neoplási-

cas, por lo que una posible causa reactiva de displasia deberá siempre considerarse antes de establecer el diagnóstico de SMD, particularmente cuando se encuentre limitada a una línea celular. De acuerdo con la OMS, los límites para definir las citopenias en SMD son: hemoglobina < 10 g/dL, cuenta absoluta de neutrófilos < $1.8 \times 10^9/L$ y plaquetas < $100 \times 10^9/L$.² La evolución de los SMD de bajo riesgo a alto riesgo y finalmente a leucemia mielocítica aguda secundaria (LMA) sugiere que la leucemogénesis es un proceso de múltiples pasos. Para separar los SMD de otras neoplasias mieloides y de estados pre-SMD, se establecieron criterios diagnósticos en la última actualización de 2017, considerando prerequisites: 1) citopenia persistente de cualquier grado por más de cuatro meses y 2) exclusión de cualquier otro origen como causa primaria de citopenia o displasia (**Cuadro 2**).¹¹ Para el diagnóstico de SMD se requiere que los dos prerequisites sean completamente cubiertos y se observen los siguientes criterios diagnósticos: 1) hallazgos displásicos hasta en 10% de todas las células en una o más líneas hematopoyéticas o una elevación $\geq 15\%$ de sideroblastos en anillo (o hasta $\geq 5\%$ cuando se observa la mutación SF3B1), 2) exceso de mieloblastos de 5-19% en el aspirado de médula ósea o 2-19% de mieloblastos circulantes en sangre periférica, y 3) detección de anormalidades cromosómicas asociadas con SMD como del(5q), -7 o cariotipo complejo. Hasta uno de estos criterios mayores tiene que ser cubierto junto con los criterios de prerequisite para establecer el diagnóstico de SMD.¹⁰

La citopenia resistente de significado indeterminado (ICUS) se ha propuesto para describir a pacientes en quienes el SMD es posible pero no probado,¹² se caracteriza por citopenia relevante y persistente

Cuadro 1. Principales características en estados de presíndrome mielodisplásico

ICUS Citopenia idiopática de significado indeterminado	Citopenias periféricas por hasta 4 meses, no se cubren criterios de SMD, sin mutaciones relacionadas a SMD, sin o solo ligera displasia (< 10%), blastos < 5%
CCUS Citopenia clonal de significado indeterminado	Citopenias periféricas por hasta 4 meses, no se cubren criterios de SMD, una o más mutaciones relacionadas con SMD, sin o solo ligera displasia (< 10%), blastos < 5%
IDUS Displasia idiopática de significado indeterminado	Sin citopenias periféricas, no se cubren criterios de SMD, sin mutaciones relacionadas con SMD, displasia en $\geq 10\%$ de neutrófilos, células eritroides, megacariocitos o ambos, blastos < 5%
CHIP Hematopoyesis clonal de potencial indeterminado	Sin citopenias periféricas, no se cubren criterios de SMD, una o más mutaciones relacionadas con SMD, sin o solo ligera displasia (< 10%), blastos < 5%

Valent P. Pathobiology 2018. DOI: 10.1159/000489042

Cuadro 2. Causas de citopenia y displasia en células de la médula ósea

Alteración de células hematopoyéticas

Síndromes de insuficiencia medular hereditarios
Enfermedades constitucionales (anemia diseritropoyética congénita, anemia sideroblástica, anemia de Fanconi, síndrome de Down)
Neoplasias mieloides además de los SMD que producen marcada displasia
Neoplasias linfoproliferativas (leucemia de linfocitos grandes granulares de células T)

Hemoglobinuria paroxística nocturna

Aplasia pura de serie roja
Deficiencias nutricionales
Transformación gelatinosa de la médula ósea (atrofia serosa de la médula ósea)
Deficiencia de vitamina B₁₂ y ácido fólico
Deficiencia de cobre

Infecciones

Infecciones virales (citomegalovirus, virus de Epstein-Barr, virus de la inmunodeficiencia humana, parvovirus B19, hepatitis, otros)
Infecciones bacterianas
Leishmaniasis visceral

Trastornos inmunitarios, metabólicos y otros

Enfermedades autoinmunitarias
Insuficiencia renal crónica
Enfermedad hepática crónica (hepatitis crónica, hepatopatía inducida por alcohol, cirrosis hepática)
Procesos inflamatorios crónicos (infección, inflamación, cáncer)

Toxicidad medular

Alteración de la médula ósea inducida por drogas y alcohol
Quimioterapia
Trasplante de células progenitoras de médula ósea
Daño por radiación
Daño por tóxicos (exposición a metales pesados: plomo, arsénico)

Valent P. Pathobiology 2018. DOI: 10.1159/000489042

por hasta 6 meses, en una o más de las líneas celulares sanguíneas, que no puede ser explicada por ninguna otra enfermedad hematológica o no hematológica y no cubre los criterios mínimos para el diagnóstico de SMD. El impacto pronóstico de esta condición permanece incierto, porque en un subgrupo de pacientes, la progresión a SMD o LMA se puede observar en un periodo variable y en otros puede desarrollarse una neoplasia linfoproliferativa o de mastocitos. Debido a que el curso clínico de la ICUS es variable e impredecible, estos pacientes deberán ser cuidadosamente vigilados con estudios repetidos, incluyendo el examen de médula ósea.^{10,12} En el presente, no se recomienda ningún

tratamiento para pacientes con ICUS/IDUS si no tiene una citopenia clínicamente significativa, por lo que es necesario excluir causas concomitantes y realizar un seguimiento a largo plazo.⁶

REFERENCIAS

1. Valent P. Low blood counts: immune mediated, idiopathic, or myelodysplasia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012;2012:485-491.
2. Arber DA, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016;127(20):2391-2405.
3. Gnanaraj J, et al. Approach to pancytopenia: Diagnostic algorithm for clinical hematologists. *Blood Reviews*

2018, <https://doi.org/10.1016/j.blre.2018.03.001>

4. Bektas O, et al. High frequency of autonomous T cell proliferation compatible with T cell large granular lymphocytic leukemia in patients with cytopenia of unknown etiology. *Int J Hematol* 2015;102:211-217.
5. Servioli L, et al. Blood cytopenias in systemic autoimmune conditions. *Arch Med Interna* 2014;36(3):101-109.
6. Barcellini W. The relationship between idiopathic cytopenias/dysplasias of uncertain significance (ICUS/IDUS) and autoimmunity. *Expert Rev Hematol* 2017. DOI: 10.1080/17474086.2017.1339597
7. Valent P, Hornu H.P. Minimal diagnostic criteria for myelodysplastic syndromes and separation from ICUS and IDUS: update and open questions. *Eur J Clin Invest* 2009;39(7):548-553.
8. Valent P, et al. Idiopathic cytopenia of undetermined significance (ICUS) and idiopathic dysplasia of uncertain significance (IDUS), and their distinction from low risk MDS. *Leukemia Research* 2012;36:1-5.
9. Valent P, et al. Proposed minimal diagnostic criteria for myelodysplastic syndromes (MDS) and potential pre-MDS conditions. *Oncotarget* 2017;8(43):73483-73500.
10. Valent P. Idiopathic cytopenia of uncertain significance, idiopathic dysplasia of unknown significance, clonal hematopoiesis with indeterminate potential, and clonal cytopenia of unknown significance: diagnostic criteria, separation from myelodysplastic syndromes, and clinical implications. *Pathobiology* 2018. DOI: 10.1159/000489042
11. Invernizzi R, et al. Importance of classical morphology in the diagnosis of myelodysplastic syndrome. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2015;7(1): e2015035, DOI: <http://dx.doi.org/10.4084/MJHID.2015.035>
12. Malcovati L, Cazzola M. The shadowlands of MDS: idiopathic cytopenias of undetermined significance (ICUS) and clonal hematopoiesis of indeterminate potential (CHIP). *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2015; 2015: 299- 307

Síndromes mielodisplásicos: nuevas terapias

David Gómez-Almaguer

Jefe del Servicio de Hematología, Hospital Universitario Dr. José E González y Facultad de Medicina, UANL, Monterrey, NL, México.

Introducción

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) incluyen un grupo heterogéneo de alteraciones celulares de la médula ósea que se caracteriza por insuficiencia medular, se manifiesta ya sea con citopenia unilineal, bicitopenia o pancitopenia y con riesgo de transformación a leucemia aguda. A diferencia de la anemia aplásica, en el SMD la médula ósea es celular.

Epidemiología y clasificación de la mielodisplasia

La incidencia aumenta con la edad, 65-75 años es lo habitual y se observan 3-4 casos nuevos por 100,000 habitantes/año, es más prevalente en varones. En México y en Latinoamérica se carece de estadísticas confiables de esta enfermedad, recientemente se formó un grupo latinoamericano de SMD (GLAM) que tiene como objetivo informar sobre la situación del SMD en la región.

La clasificación ha evolucionado a medida que se identifican más detalles citogenéticos, moleculares y clínicos de la enfermedad. La OMS modificó, en 2016, la clasificación morfológica Franco-Americana-Británica (FAB) utilizada desde 1976, es la siguiente:

- SMD con displasia de una sola línea celular
- SMD con sideroblastos en anillo
- SMD con displasia de múltiples líneas celulares
- SMD con exceso de blastos
- SMD con del(5q) aislada
- Inclasificable sin mielodisplasia obvia, pero aún con alteraciones citogenéticas.

Fisiopatología y biología molecular

Los SMD tienen en común dos factores: a) la existencia de citopenias y b) la dismorfogénesis de todas las estirpes celulares, en particular de los eritrocitos. Se considera que los factores que producen anemia en los pacientes son la falta de diferenciación celular, la apoptosis aumentada y las alteraciones clonales malignas. Estos factores varían en cada grupo de mielodisplasia. Se ha demostrado que hay un defecto en la autoinmunidad en algunos individuos, tal como se observa en los casos de anemia aplásica.

Usualmente observamos citopenias o pancitopenia moderada, sin blastos circulantes o con mínima cantidad de ellos, con un curso clínico crónico y médula ósea displásica con celularidad normal o sólo ligeramente disminuida. Las alteraciones hematológicas se acompañan de características de displasia en la morfología celular y constituyen los rasgos distintivos de la mielodisplasia. La anemia frecuentemente está presente y se relaciona con respuesta de reticulocitos relativamente baja que refleja el daño medular.

La enfermedad puede confundirse con la anemia aplásica; sin embargo, la celularidad normal o aumentada de la médula ósea es la regla en la mielodisplasia, en tanto que en la aplasia siempre existe hipocelularidad grave que puede demostrarse mediante la biopsia correspondiente.

En algunos casos puede haber mielodisplasia con ligera hipoplasia, que resulta difícil de distinguir de la anemia aplásica leve o moderada. Hay cambios cromosómicos hasta en 75% de los casos, que afectan sobre todo a los cromosomas 5, 7 y 8; de éstos, el más común es el -5/5q (deleción) seguido de monosomía -7/7q. El primero de ellos, que constituye el típico síndrome

5q-, es común en mujeres de edad avanzada, con anemia microcítica y trombocitosis, sin deficiencia de hierro; tiene buen pronóstico. La monosomía 7, por el contrario, implica un mal pronóstico.

Estudios han sugerido que las mutaciones más comunes asociadas con SMD son DNMT3A, TET2, ASXL1, TP53, RUNX1 y genes que componen la maquinaria de empalme 3'ARN como: SF3B1, U2AF1, SRSF2 y ZRSR2, incluyendo mutaciones somáticas en SF3B1.

Cuadro clínico y diagnóstico

La manifestación clínica es inespecífica. Algunos pacientes son asintomáticos al momento del diagnóstico, que se da la mayor parte de las veces al consultar por alteraciones en estudios de laboratorio rutinario, fundamentalmente en el hemograma. Otros manifiestan síntomas resultantes de las citopenias encontradas, es predominante la anemia y rara vez inician el cuadro con infecciones o sangrados. Por lo general, el cuadro es gradual y progresivo. Es raro encontrar hepatomegalia, esplenomegalia o adenomegalia.

El diagnóstico de síndrome mielodisplásico se establece en un paciente con citopenia inexplicable, realizando una anamnesis detallada, y mediante la evaluación de la médula ósea, usualmente hiper celular, con cambios displásicos, componente clave para el diagnóstico.

En pacientes con citopenias y blastos circulantes por encima de 20% o fibrosis significativa, es importante considerar diagnósticos diferenciales la leucemia mieloide aguda y mielofibrosis, respectivamente, además del descartar anemia megaloblástica por las características de la anemia. El conteo celular por aspirado medular nos hace descartar anemia aplásica.

Cuadro 1. Fármacos en fase de prueba para tratar el SMD

Eltrombopag
Luspatercept
Pexmetinib
Enasidenib
Ivosidenib
Rigosertib

Tratamiento

Antes de iniciar el tratamiento suele estimarse el futuro del paciente mediante una escala de riesgo. En 1997 se estableció un índice pronóstico internacional (IPSS) basado en las características citogenéticas, el porcentaje de blastos y la existencia de citopenias de este grupo de padecimientos. En este índice, los enfermos son asignados a cuatro categorías de riesgo: bueno, intermedio-1, intermedio-2 y malo, cuya supervivencia varía de acuerdo con el riesgo (**Cuadro 2**).

En 2007 y en 2012 se publicaron otras escalas de riesgo, esto a nivel internacional, denominadas WPSS e IPSS-R, respectivamente, que dividen a los pacientes en 5 categorías de riesgo: muy bajo, bajo, intermedio, alto y muy alto, con supervivencias globales reportadas desde 8.8 años en la primera categoría hasta 0.8 años en la última (**Cuadro 3**).

SMD de riesgo bajo o intermedio

No todos los pacientes con SMD requieren tratamiento inmediato, hay pacientes que sobreviven más de una década con manejo de soporte, quienes requieren tratamiento inmediato son quienes padecen síntomas de anemia o trombocitopenia o infecciones recurrentes asociadas con neutropenia severa. Un grupo pequeño de enfermos puede mejorar con factores estimulantes de colonias

Cuadro 2. Supervivencia global basada en el Sistema de Puntaje Pronóstico Internacional (IPSS)

Nivel de riesgo	Supervivencia global (años)
Bajo	5.7
Intermedio-1	3.5
Intermedio-2	1.2
Alto	0.4

Cuadro 3. Supervivencia global basada en el Sistema Revisado Internacional de Puntaje Pronóstico (IPSS-R)

Nivel de riesgo	Supervivencia global (años)
Muy bajo	8.8
Bajo	5.3
Intermedio	3.0
Alto	1.6
Muy alto	0.8

de granulocitos. En pacientes con SMD hipocelular deben considerarse inmunosupresores, como la globulina antitimocito y ciclosporina. Los factores estimulantes de la eritropoyesis incrementan en ocasiones la hemoglobina de estos individuos y pueden disminuir las transfusiones; sin embargo, la mediana de respuesta tiene duración aproximada de dos años. La dosis óptima de eritropoyetina (Epoetina alfa) es de 30,000 a 80,000 UI y de la darbaepoietina alfa de 150 a 300 µg, de aplicación semanal vía subcutánea. Los andrógenos pueden mejorar al paciente y mantenerlo libre de transfusiones. El danazol es una opción atractiva por su bajo costo y buena seguridad en centros con poco acceso a alternativas terapéuticas novedosas y en estos pacientes la administración concomitante de eritropoyetina en dosis altas vía subcutánea puede evitar transfusiones. Lenalidomida

puede administrarse a pacientes con delección del brazo largo del cromosoma 5 (del5q) y anemia dependiente de transfusiones, evitando las transfusiones hasta en 75% de los pacientes.

Roxadustat es un factor inhibidor de la prolil-hidroxilasa que actúa incrementando la producción endógena de eritropoyetina. Luspatercept activa a las proteínas inhibidoras de SMAD2/3 promoviendo una diferenciación y maduración tardía de los precursores eritroides, parece ser capaz de reducir la anemia en los pacientes con SMD de bajo riesgo o intermedio, observándose mejoría hematológica e independencia a la transfusión en 78 y 50%, respectivamente. En cuanto a la terapia en la vía MAP cinasa (proteínas cinasas activadas por mitógenos), el Pexmetinib, p38 MAP cinasa han sido bien tolerados e inducen respuesta favorable en las 3 líneas sanguíneas en 30% de los pacientes, esto en estudio de fase 1. La administración de eltrombopag para reducir las citopenias o trombocitopenia en SMD parece no ser útil y pudiese ser incluso peligroso.

SMD de riesgo alto

El trasplante alogénico de células hematopoyéticas representa el único tratamiento con rango de curación potencial de 30-50%; sin embargo, se ha calculado que menos de 10% de los pacientes son aptos "ideales" para trasplante. En pacientes no elegibles a trasplante, las opciones son limitadas. El tratamiento suele ser decepcionante en muchos de los pacientes, en quienes se instituyen medidas de mantenimiento, por ejemplo, transfusiones de glóbulos rojos; cuando hay trombocitopenia considerable se les transfunden plaquetas. Cuando la mielodisplasia se manifiesta con exceso de blastos, la quimioterapia con dosis bajas de citarabina (ARA-C) puede mejorar

a los pacientes y algunas veces prolongar su supervivencia. Cuando la transformación evoluciona hacia leucemia aguda, también puede aplicarse quimioterapia ordinaria intensiva, como el esquema 7+3, si el paciente se encuentra en buenas condiciones físicas. Fármacos con capacidad hipometilante, como la azacitidina 75 mg/m²/día por 7 días con un ciclo a los 28 días o la dacitabina 20 mg/m²/día por 5 días con un ciclo a los 28 días por más de 6 ciclos, pueden administrarse como primera línea en enfermos de riesgo elevado, una de las ventajas observadas en estos medicamentos es su buena tolerancia y baja toxicidad, por lo que pueden prescribirse de manera ambulatoria e incluso en pacientes mayores o frágiles; sin embargo, no ofrecen mejoría sostenida y prolongada, la respuesta tiene duración de 6 a 26 meses, por lo que al final casi todos los pacientes recaen, además, su costo es alto. Estudios recientes retrospectivos en el llamado “mundo real”, fuera de ensayos clínicos, han demostrado resultados decepcionantes con los agentes hipometilantes, lo que contrasta con estudios previos alentadores, patrocinados por la industria farmacéutica. Tras la recaída después del tratamiento con azacitidina, estos pacientes tienen muy baja supervivencia. Existen nuevas moléculas como la guadecitabina, un agente hipometilante subcutáneo que produce una exposición más prolongada a dacitabina. Un estudio en fase I/II encontró tasa de respuesta de 52% (55/107) a guadecitabina en el tratamiento de primera línea de LMA. La guadecitabina se estudió también en 19 pacientes en recaída o SMD resistente tras tratamiento con hipometilantes, con tasa de respuesta de 32%, por estos resultados se ha propuesto a la guadecitabina como terapia de rescate en SMD de alto riesgo o con LMA con baja

cuenta de blastos después de falla a azacitidina, que no sean aptos para recibir esquemas de quimioterapia intensa o trasplante alogénico.

La combinación entre agentes hipometilantes y venetoclax fue aprobada recientemente por la FDA para pacientes con LMA no elegibles para quimioterapia mostrando tasas de remisión completa que hacen pensar que puede prescribirse en pacientes con SMD con falla a los hipometilantes o incluso como primera opción terapéutica. Como se señaló, la mejor alternativa de tratamiento y la única curativa en SMD la constituye el trasplante de médula ósea. Este tratamiento se ha simplificado hoy en día, porque puede usarse una modalidad que consiste en reducir la intensidad de la quimioterapia de preparación pretrasplante (trasplante de intensidad reducida); esto reduce la toxicidad y mortalidad relacionadas con el procedimiento y permite considerar esta opción terapéutica en aquéllos que cuentan con un donador HLA idéntico, incluso en pacientes de hasta 70 años de edad en buen estado físico. La opción de trasplante haploideéntico permite ampliar el número de pacientes aptos a trasplante. Recordemos que éste es el único tratamiento realmente efectivo y debemos ofrecerlo a mayor número de pacientes, incluso antes de administrar hipometilantes.

Otras opciones emergentes

Otro nuevo agente para tratar el SMD de alto riesgo es el rigosertib, inhibidor de multikinásas; actualmente hay estudios en curso en pacientes con falla a tratamiento con agentes hipometilantes. El pevonedistat, agente inhibidor del NEDD8, en combinación con azacitidina muestra actividad en 60%. El estudio PANTHER, en fase 3, que compara pevonedistat y azacitidina contra azacitidina como

monoterapia en SMD de alto riesgo está en curso.

El inhibidor del FLT3 como la midostaurina se encuentra en estudio fase 1 y 2 en combinación con agentes hipometilantes para el tratamiento de SMD de alto grado con mutación de FLT3 y leucemia mieloide aguda (LMA). El enasidenib (AG-221) es un inhibidor de la proteína IDH2 aprobado por la FDA para tratar la LMA en recaída/resistente con mutación IDH2. Se encuentra en estudio fase 1 para pacientes con SMD. Ivosidenib (AG-120) es un inhibidor de la proteína IDH1 aprobado por la FDA para tratar la LMA en recaída/resistente con mutación IDH1. Un estudio demostró que la administración de este medicamento en pacientes con SMD tuvo 91.7% de tasa de respuesta global (ORR) y respuesta completa (RC) de 41.7%. Recientemente un estudio preclínico con el anticuerpo monoclonal anti-CD117 demostró resultados alentadores en la erradicación de los progenitores hematopoyéticos responsables del SMD y a su vez lograr potenciar el efecto curativo del trasplante haploideéntico, se requieren más estudios para replicar estos resultados.

Complicaciones y pronóstico

Los ancianos, sujetos con citopenias graves y personas con aumento del número de blastos tienen el peor pronóstico. La complicación más grave es la aparición de leucemia aguda, otras son hemorragia e infecciones, es decir, lo habitual en pacientes con insuficiencia de médula ósea. Los pacientes con mielodisplasia de riesgo bajo o intermedio suelen tener mejor supervivencia y algunas veces sobrepasan los cinco años. Hasta ahora la mayor parte de los tratamientos han fallado en los SMD de riesgo alto, esto en el llamado “mundo real”. El trasplante debe de

hacerse rápidamente en pacientes en buenas condiciones físicas, la edad no es un factor limitante. El trasplante haploidéntico facilita encontrar donadores en los hijos de pacientes con SMD. Esperemos que los nuevos tratamiento cambien este paradigma.

BIBLIOGRAFÍA

1. Crisp R, Grille S, Belli C, et al. (2018). Myelodysplastic syndromes in Latin America: state of the art. *Blood Advances* 2 (Supplement 1), 60-62.
2. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016;127(20):2391-405.
3. Santini V. First-line therapeutic strategies for myelodysplastic syndromes. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2017;17S:S31-S36.
4. Adès L, Itzykson R, Fenaux P. Myelodysplastic syndromes. *Lancet* 2014;6736(13):1-14.
5. Gordon MS. Advances in supportive care of myelodysplastic syndromes. *Semin Hematol* 1999;36:21-24.
6. Colunga-Pedraza PR, Colunga-Pedraza JE, Garza-Ledezma MA, et al. Danazol as first-line therapy for myelodysplastic syndrome. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2018 Feb;18(2):e109-e113.
7. Dickinson M, Cherif H, Fenaux P, Mittelman M, Verma A, Portella MS, et al. (2018). Azacitidine with or without eltrombopag for first-line treatment of intermediate- or high-risk MDS with thrombocytopenia. *Blood* 132(25):2629-2638.
8. Chuang JC, Warner SL, Vollmer D, et al. S110, a 5-Aza-2'-deoxycytidine-containing dinucleotide, is an effective DNA methylation inhibitor in vivo and can reduce tumor growth. *Mol Cancer Ther* 2010;9(5):1443-1450.
9. Kantarjian HM, Roboz GJ, Kropf PL, et al. Guadecitabine (SGI-110) in treatment-naïve patients with acute myeloid leukaemia: phase 2 results from a multicentre, randomised, phase 1/2 trial. *Lancet Oncol* 2017;18(10):1317-1326.
10. Issa J-PJ, Roboz G, Rizzieri D, et al. Safety and tolerability of guadecitabine (SGI-110) in patients with myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukaemia: a multicentre, randomised, dose-escalation phase 1 study. *Lancet Oncol* 2015;16(9):1099-1110.
11. Sébert M, Renneville A, Bally C, et al. A phase II study of guadecitabine in higher-risk myelodysplastic syndrome and low blast count acute myeloid leukemia after azacitidine failure. *Haematologica* 2019; 104:xxx.
12. Gamal Abdul Hamid, Abdul Wahab Al-Nehmi and Safa Shukry (January 30th 2019). *Diagnosis and Classification of Myelodysplastic Syndrome* DOI: 10.5772/intechopen.82532
13. MORA, Gloria Elena et al. Clinical characterization of patients with myelodysplastic syndrome. *Acta Med Colomb* 2016;41(1):36-41. ISSN 01202448.
14. Mufti GJ, Bennett JM, Goasguen J, et al. Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome: International Working Group on Morphology of myelodysplastic syndrome ((IWGM-MDS) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts. *Haematologica* 2008;93:1712.
15. Shallisa RM, Ahmada R, Zeidana AM, et al. The genetic and molecular pathogenesis of myelodysplastic syndromes. *Eur J Haematol* 2018 Sep;101(3):260-270
16. Lindsley RC, Ebert BL. Molecular pathophysiology of myelodysplastic syndromes. *Annu Rev Pathol* 2013 January 24;8.
17. Yoshida K, Sanada M, Shiraishi Y, et al. Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia. *Nature* 2011 Oct;478(7367):64-9. Epub 2011 Sep 11.
18. Gangat N, Patnaik MM, Begna K, et al. Survival trends in primary myelodysplastic syndromes: a comparative analysis of 1000 patients by year of diagnosis and treatment. *Blood Cancer J* 2016;6(4):e414.
19. Pang WW, Czechowicz A, Logan AC, et al. (2019). Anti-CD117 antibody depletes normal and myelodysplastic syndrome human hematopoietic stem cells in xenografted mice. *Blood*, (), blood-2018-06-858159
20. Ravandi F, Alattar ML, Grunwald MR, et al. Phase 2 study of azacitidine plus sorafenib in patients with acute myeloid leukemia and FLT-3 internal tandem duplication mutation. *Blood* 2013; 121:4655-4662.
21. Strati P, Kantarjian H, Ravandi F, et al. Phase I/II trial of the combination of midostaurin (PKC412) and 5-azacitidine for patients with acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *Am J Hematol* 2015; 90:276-281.
22. Stein EM, DiNardo CD, Pollyea DA, et al. Enasidenib in mutant IDH2 relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Blood* 2017; 130:722-731. Established clinical benefit of IDH2 inhibitors in patients with relapsed/refractory IDH2 mutant AML previously treated with at least 2 lines of therapy. Promising efficacy in AML that is being clinically evaluated in high-risk MDS.
23. New Data from Ivosidenib Phase 1 Dose-Escalation and Expansion Trial Demonstrate Durable Responses in Patients with IDH1m Relapsed or Refractory AML. 2017 [press release].

Marcadores moleculares de LAM: trascendencia en el pronóstico

Roberta Demichelis-Gómez

Clínica de Leucemias, Departamento de Hematología y Oncología, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Ciudad de México, México.

Introducción

La leucemia mieloide aguda (LMA) es considerada la leucemia aguda más frecuente en adultos, con mediana de edad al diagnóstico de 68 años.¹ Desde hace un par de décadas se reconoce que las alteraciones citogenéticas son fundamentales para determinar el pronóstico de

estos pacientes.² Recientemente, desde que se secuenció el genoma de la LMA en 2008 se reconoce que se trata de una enfermedad compleja y dinámica con múltiples mutaciones somáticas y evolución clonal.³⁻⁵ Las clasificaciones actuales de riesgo incluyen características citogenéticas y moleculares.^{6,7}

Conceptos clave de fisiopatología

El desarrollo de LMA se debe a una serie de mutaciones ordenadas y jerarquizadas. Recientemente se ha descrito el concepto de CHIP (hematopoyesis clonal de significado incierto); mutaciones que surgen en relación con la edad. Las más frecuentes surgen en genes de regulación epigenética *DNMT3A*, *TET2* y *ASXL1* y se asociaron con mayor riesgo de cáncer hematológico (HR 11.1), mayor riesgo de muerte por cualquier causa (HR 1.4) e interesantemente mayor riesgo de enfermedad coronaria (HR 2.6). Sin embargo, a pesar de tener mayor riesgo, un porcentaje bajo de pacientes desarrollaron una neoplasia hematológica.⁸ Se requiere una segunda y tercera mutación para la aparición de LMA.^{9,10} Es por lo tanto una enfermedad policlonal y las subclonas tienen distintas mutaciones. El perfil de mutaciones no es estable en los diferentes momentos de la enfermedad (diagnóstico, remisión o recaída). Las mutaciones asociadas con neoplasias mieloides pueden clasificarse en distintos grupos: mutaciones en señales de transducción, regulación epigenética, regulación de la transcripción, regulación del ADN y misceláneos.¹¹

Impacto pronóstico de las mutaciones

Como es bien sabido, las alteraciones en cariotipo en médula ósea tienen un impacto pronóstico muy claro para la supervivencia global (SG). Se describieron inicialmente

SG a 5 años de 55, 38 y 11% para los riesgos favorable, intermedio y desfavorable, respectivamente.² Sin embargo, aproximadamente 50% de los pacientes pertenecen al grupo de riesgo intermedio y el comportamiento de este grupo suele ser muy heterogéneo.^{2,12} Más adelante se demostró que la mayoría de los pacientes con LMA (97.3%) tienen al menos una de las mutaciones asociadas con neoplasias mieloides. Las mutaciones en *FLT3* y *NPM1* son las más frecuentes.^{13,14} En el **Cuadro 1** puede verse la frecuencia en la que se encuentran presentes las principales mutaciones en LMA y su impacto en el pronóstico y significado clínico.¹⁵

Mutaciones en *NPM1*

Las mutaciones en *NPM1* se encuentran en 30-35% de las LMA. En la clasificación de la OMS 2016 se incluyó como entidad aceptada dentro de la categoría de las LMA asociadas con anomalías genéticas recurrentes.¹⁶ Estas mutaciones son iniciadoras de la clona y por

lo tanto suelen presentarse en toda la población leucémica y ser muy estables en el tiempo. Además, su presencia suele ser excluyente de otras LMA asociadas con anomalías genéticas recurrentes.¹⁷ Se presentan en pacientes con cariotipo normal, más jóvenes y frecuentemente (40%) coocurren con mutaciones en *FLT3*. Se asocian con buen pronóstico cuando no se asocian con mutaciones en *FLT3-ITD* (o mutaciones en *FLT3* con baja carga alélica), con SG a 4 años de 60%.¹³⁻¹⁵

Mutaciones en *FLT3*

De forma global, las mutaciones en *FLT3* se presentan en 20-30% de las LMA y en los pacientes con cariotipo normal en 35%. Pueden clasificarse en dos tipos: duplicaciones internas en tándem o *FLT3-ITD* (75-85%) o mutaciones en el dominio de tirosín-cinasa o *FLT3-TKD* (20-35%).¹³⁻¹⁵ Afectan a pacientes más jóvenes (mediana 57 años), con leucocitosis (mediana de leucocitos $34.9 \times 10^3/L$) y frecuen-

Cuadro 1. Mutaciones génicas frecuentes en LMA

Gen	Frecuencia	Significado clínico
<i>NPM1</i>	30-35%	Pronóstico favorable. Útil para seguimiento en EMR
<i>FLT3-ITD</i>	20-30%	Pronóstico adverso, modulado por la coocurrencia de mutaciones en <i>NPM1</i> y por la carga alélica. Blanco terapéutico
<i>DNMT3A</i>	18-22%	Pronóstico adverso.
<i>TET2</i>	7-25%	Pronóstico no claro. Sugiere mejor respuesta a hipometilantes
<i>CEBPA</i>	6-15%	Pronóstico favorable si mutación bialélica. Pueden ser de línea germinal
<i>RUNX1</i>	5-20%	Pronóstico desfavorable. Pueden ser de línea germinal
<i>IDH2</i>	8-20%	Pronóstico no claro. Blanco terapéutico
<i>IDH1</i>	6-15%	Pronóstico no claro. Blanco terapéutico
<i>ASXL1</i>	5-17%	Pronóstico adverso. Asociada con leucemias secundarias
<i>TP53</i>	8-18%	Pronóstico adverso. Asociada con cariotipo complejo

temente con pérdida de HLA-DR y C34 y expresión de CD123.^{18,19} La presencia de mutaciones *FLT3-ITD* se ha relacionado con pronóstico adverso en pacientes jóvenes y en mayores de 60 años, con SG a 4 años cercana a 20% con mediana de 6-12 meses.^{13,20-22} Algunos factores modulan el mal pronóstico de *FLT3-ITD*, principalmente la presencia de otras mutaciones (*NPM1*) y la carga alélica (relación entre el *FLT3-ITD* mutado sobre el no mutado). En cuanto a la carga alélica de *FLT3-ITD*, dos estudios han demostrado que una mayor carga alélica se asocia con mal pronóstico. En el primero, una carga alélica > 0.78 se asoció con peor supervivencia libre de enfermedad (SLE) y SG.²² En el segundo, el corte que se encontró fue > 0.5 para asociarse con peor SG. Este último fue el que se consideró para la clasificación de riesgo de la ELN (**Cuadro 2**).²³ Otros grupos, sin em-

bargo, no han podido replicar este hallazgo.²⁴ Esto, acompañado de la falta de estandarización para determinar la carga alélica, hace que su interpretación sea complicada. Las mutaciones en *FLT3* no son totalmente estables durante la evolución de la enfermedad; 25% tendrán recaídas *FLT3-ITD* negativas.²⁵ Esto es una de las razones por las que no son un buen marcador para seguimiento de EMR. Finalmente, la determinación de mutaciones en *FLT3* es hoy en día fundamental para utilizarse como blanco terapéutico. En la última década se han desarrollado un gran número de inhibidores de *FLT3*. Al día de hoy se han aprobado 2 de ellos: midostaurina de primera generación en combinación con quimioterapia intensiva en pacientes con LMA de reciente diagnóstico aptos para quimioterapia intensiva (estudio RATIFY)¹⁹ y gilteritinib de segunda generación, como mono-

droga en pacientes en recaída o resistentes.²⁶

CEBPA

CEBPA es un factor de transcripción para la diferenciación y proliferación granulocítica. En LMA, las mutaciones ocurren en 6-15% de los casos, generalmente asociadas con cariotipo normal y coocurren con mutaciones en *FLT3* (22-33%).^{15,16} Estas mutaciones, cuando son bialélicas, se asocian con pronóstico favorable, con remisiones duras y SG prolongada.¹³⁻¹⁵

RUNX1

Las mutaciones en *RUNX1* se han descrito en 5-20% de las LMA y son mutuamente excluyentes con mutaciones en *NPM1* y *CEBPA*.¹⁵ Se presentan a mayor edad, con cariotipo normal o asociada con trisomía del 13 y asociadas con morfología M0.^{27,28} Su presencia en LMA es un factor independiente para peor SG.²⁹ En la clasificación de la OMS 2016, las LMA asociadas con mutaciones en *RUNX1* se incluyeron como entidad provisional.¹⁶

ASXL1

Las mutaciones en *ASXL1* se han descrito en 5-17% de las LMA de novo y con mayor frecuencia en las LMA secundarias (hasta 30%). No suelen tener mutaciones en *NPM1* ni *FLT3*, pero suelen estar asociadas con otras mutaciones (*ASXL1*, *SRSF2* o *IDH2*). Su presencia en LMA suele asociarse con peor pronóstico, quimiorresistencia y peor SG.^{30,31}

TP53

Las mutaciones en *TP53* se presentan en 5-18% de las LMA de novo y 30% en las secundarias. En los pacientes con cariotipo complejo, se presentan en más de 50%. Su pronóstico es sumamente adverso con mediana de supervivencia global de 4.6 meses y SG

Cuadro 2. Estudios que evalúan la medición de *NPM1* para seguimiento de enfermedad mínima residual

Riesgo	ELN
Favorable	- t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> - inv(16)(p13.1;q22) o t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i> - Mutación <i>NPM1</i> sin <i>FLT3-ITD</i> (o <i>FLT3-ITD</i> ^{bajo}) - Mutación <i>CEBPA</i> bialélico
Intermedio	- Mutación <i>NPM1</i> y <i>FLT3-ITD</i> ^{alto} - <i>NPM1</i> silvestre sin <i>FLT3-ITD</i> (o <i>FLT3-ITD</i> ^{bajo}) - t(9;11)(p22;q23); <i>MLL3-MLL</i> - No clasificadas como favorables o adversas.
Desfavorable	- inv(3)(q21;q26.2) o t(3;3)(q21;q26.2) - t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214</i> - t(v;11)(v;q23); rearreglo <i>MLL</i> - t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1</i> - -5 ó del(5q); -7; an(17p) - cariotipo complejo o monosómico - <i>NPM1</i> silvestre y <i>FLT3-ITD</i> ^{alto} - Mutaciones en <i>RUNX1</i> , <i>ASXL1</i> y <i>TP53</i>

FLT3^{bajo}: <0.5; *FLT3*^{alto} ≥ 0.5; cariotipo complejo: 3 o más anomalías citogenéticas no relacionadas, excluyendo las alteraciones definitorias de la OMS; monosómico: 1 monosomía (excluyendo X y Y) + una monosomía o alteración estructural extra.

a 3 años, incluso con trasplante alogénico (AloTCPH), de solamente 15%.^{15,32-34}

c-KIT

Las mutaciones en c-KIT ocurren frecuentemente en LMA con t(8;21) o inv(16)/t(16;16) (20-25 y 30%, respectivamente).^{15,35} Una revisión sistemática reciente que incluyó 3284 pacientes concluyó que las mutaciones en c-KIT se asocian con mayor tasa de recaída y menor SLE en pacientes con t(8;21). La evidencia de esto es mucho menos sólida en pacientes con inv(16). Estas mutaciones no se asocian con peor SG. Hoy día no existe suficiente evidencia para dejar de considerarlas de riesgo favorable o modificar el tratamiento (ej. AloTCPH) con base en la mutación.³⁵

Enfermedad mínima residual

En la última década se ha prestado más importancia y ha ido ganando lugar la medición de EMR en LMA. Recientemente se publicaron recomendaciones de la ELN para su medición.³⁶ Existen distintos métodos: citometría de flujo, PCR y secuenciación de nueva generación (NGS). Estos métodos aún carecen de estandarización adecuada. La determinación de alguna de estas mutaciones, ya sea por PCR o NGS, puede utilizarse para seguimiento de EMR. Dada la heterogeneidad molecular de la LMA, no todas las mutaciones son blancos adecuados para seguimiento. En cuanto a mutaciones puntuales, hoy día se recomienda que las mutaciones en *FLT3-ITD*, *FLT3-TKD*, *NRAS*, *KRAS*, *DNMT3A*, *ASXL1*, *IDH1*, *IDH2* y *MLL-PTD* no se utilicen para medición de EMR, porque no parecen predecir de forma adecuada la recaída.³⁶ Por otro lado, las mutaciones en *NPM1*, al ser mutaciones fundadoras de la clona y estables en el tiempo (al igual que los rearrreglos en *RUNX1-RUNX1T1*, *CBFB-MYH11*

o *PML-RARA*) son útiles para el seguimiento de la enfermedad. Distintos grupos europeos han demostrado que la negativización de *NPM1* por PCR después de 2 ciclos de quimioterapia y al final de la quimioterapia, se asocia con tasas muy bajas de recaída (0-37 vs 53-85%).³⁷⁻⁴⁰

Cuadro 3

Por otro lado, cada vez se ha extendido más el uso de paneles de NGS al diagnóstico en pacientes con LMA. Algunos grupos han analizado el valor pronóstico de la desaparición/persistencia de estas mutaciones en remisión completa. Uno de los estudios más grandes al respecto demostró que 89.2% de los pacientes tienen mutaciones al diagnóstico y 51.4% estando en remisión. Lo más frecuente fue la persistencia de mutaciones en *DNMT3A* (78.7%), *TET2* (54.2%) y *ASXL1* (51.6%) y la persistencia de éstas no se asoció con mayor tasa de recaída. La persistencia de mutaciones distintas a éstas sí se asoció con mayor probabilidad de

recaída a 4 años (55.7 vs 34.6%, $p = 0.001$) y menor SG a 4 años (43.7 vs 65.3%, $p = 0.01$).⁴¹

¿Cómo incorporar las mutaciones en el diagnóstico y seguimiento de los pacientes con LMA?

El conocimiento sobre la complejidad de la LMA y la relevancia de las mutaciones en el seguimiento hace complejo el abordaje diagnóstico de la LMA hoy en día. Tanto la ELN como NCCN hacen recomendaciones específicas acerca de las mutaciones a determinar. La ELN recomienda, además de obtener un cariotipo en médula ósea y hacer un escrutinio para los rearrreglos más frecuentes (*PML-RARA*, *CBFB-MYH11*, *RUNX1-RUNX1T1*, *BCR-ABL1*), la determinación de las siguientes mutaciones: *NPM1*, *CEBPA*, *RUNX1*, *FLT3*, *TP53*, *ASXL1*.⁶ Por su parte NCCN recomienda la detección de al menos las siguientes mutaciones: *KIT*, *FLT3*, *NPM1*, *CEBPA*, *IDH1*, *IDH2* y *TP53*.⁶

Cuadro 3. Estudios que evalúan la medición de *NPM1* para seguimiento de enfermedad mínima residual

Núm.	Medición	Negativos	Desenlaces
194	SP post 2 ciclos	84.5%	Recaída 3 años: 30 vs 82% SG 3 años: 74 vs 24%
137	MO post 2 ciclos	19%	Recaída 4 años: 6.4 vs 53% SG 4 años: 90 vs 56%
82	MO post 2 ciclos	26%	SG 3 años: 84 vs 47%
194	SP final del tratamiento	92%	G 3 años: 84 vs no estimable
131	SP 1 o 2 ciclos	55% (red ≥ 4 log)	Recaída 3 años: 20.5 vs 65.8% SG 3 años: 91-93 vs 40.8%
129	MO final de tratamiento	48%	Recaída 4 años: 15.7 vs 66.5% SG 4 años: 80 vs 44%
80	MO final de tratamiento	49%	Recaída 1 año: 37 vs 63% ($\leq 1\%$) vs 85% ($> 1\%$) SG 2 años: 82 vs 61% ($\leq 1\%$) vs 45% ($> 1\%$)
136	MO seguimiento	68%	Sin recaída

SP: sangre periférica; MO: médula ósea.

La **Figura 1** muestra un algoritmo en donde se sugieren los momentos para la detección de las mutaciones más relevantes en el manejo de pacientes con LMA.

Conclusiones

Incorporar la detección de mutaciones en el abordaje diagnóstico de los pacientes con LMA es fundamental para la adecuada estratificación de riesgo, para prescribir nuevos fármacos dirigidos a alguna mutación y finalmente para el seguimiento de EMR. Se requiere trabajar en el mayor acceso y estandarización de las pruebas.

REFERENCIAS

1. National Cancer Institute. Cancer stat facts: leukemia: acute myeloid leukemia (AML). <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/amyl.html>
2. Slovak ML, Kopecky KJ, Cassileth PA, et al. Karyotypic analysis predicts

outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group study. *Blood* 2000;96(13):4075-4083.

3. Ding L, Ley TJ, Larson DE, et al. Clonal evolution in relapsed acute myeloid leukaemia revealed by whole-genome sequencing. *Nature* 2012;481(7382): 506-510.
4. Bullinger L, Döhner K, Döhner H. Genomics of acute myeloid leukemia diagnosis and pathways. *J Clin Oncol* 2017;35(9):934-946.
5. Welch JS, Ley TJ, Link DC, et al. The origin and evolution of mutations in acute myeloid leukemia. *Cell* 150(2):264-278.
6. Döhner H, Estey E, Grimwade D, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood* 2017;129(4):424-447.
7. Acute Myeloid Leukemia, Version 1.2019, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology.

8. Jongen-Lavrencic M, Grob t, Hanekamp D, et al. Molecular Minimal Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med* 2018;378:1189-1199.

9. Welch JS, Ley TJ, Link DC, et al. The origin and evolution of mutations in acute myeloid leukemia. *Cell* 2012;150(2):264-278.

10. Grimwade D, Ivey A, Huntly BJ. Molecular landscape of acute myeloid leukemia in younger adults and its clinical relevance. *Blood* 2016;127(1):29-41.

11. Tremblay D, Sokol K, Bhalla S, et al. Implications of Mutation Profiling in Myeloid Malignancies-PART 1: Myelodysplastic Syndromes and Acute Myeloid Leukemia. *Oncology (Williston Park)* 2018;32(4):e38-e44.

12. Byrd JC, Mrózek K, Dodge RK, et al. Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood* 2002;100(13):4325-4336.

13. Schlenk RF1, Döhner K, Krauter J, et al. Mutations and treatment outcome in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2008;358(18):1909-1918.

14. Patel JP, Gönen M, Figueroa ME, et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2012;366(12):1079-1089.

15. Patel U, Luthra R, Medeiros LJ, et al. Diagnostic, Prognostic, and Predictive Utility of Recurrent Somatic Mutations in Myeloid Neoplasms. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2017;17S:S62-S74.

16. Arber DA, Vardiman J, Brunning RD, et al. Acute myeloid leukemia with recurrent genetic abnormalities. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al, eds. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. 4th ed, Vol 2. Lyon, France: IARC; 2008:110-23.

17. Falini B, Martelli MP, Bolli N. Acute myeloid leukemia with mutated nucleophosmin (NPM1): is it a distinct entity? *Blood* 2011;117(4):1109-1120.

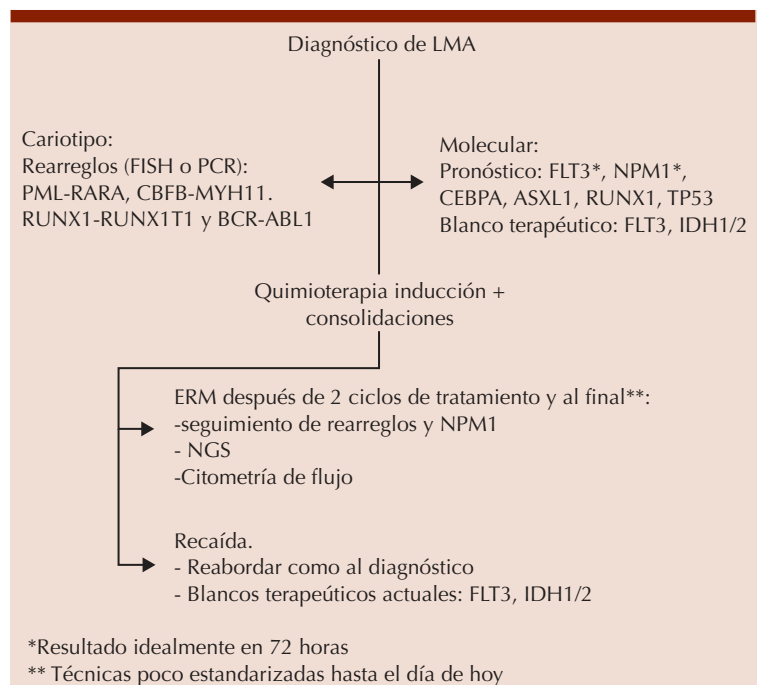


Figura 1. Como incorporar la búsqueda de mutaciones en el manejo de los pacientes con LMA.

18. Kussick SJ, Stirewalt DL, Yi HS, et al. A distinctive nuclear morphology in acute myeloid leukemia is strongly associated with loss of HLA-DR expression and FLT3 internal tandem duplication. *Leukemia* 2004;18:1591-1598.
19. Stone RM, Mandrekars SJ, Sanford BL, et al. Midostaurin plus chemotherapy for acute myeloid leukemia with a FLT3 mutation. *N Engl J Med*;2017;377:454-464.
20. Frohling S, Schlenk RF, Breitnick J, et al. Prognostic significance of activating FLT3 mutations in younger adults (16 to 60 years) with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: a study of the AML Study Group Ulm. *Blood* 2002;100:4372-4380.
21. Whitman SP, Maharry K, Radmacher MD, et al. FLT3 internal tandem duplication associates with adverse outcome and gene- and microRNA-expression signatures in patients 60 years of age or older with primary cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *Blood* 2010;116(18):3622-3626.
22. Thiedel C, Steudel C, Mohr B, et al. Analysis of FLT3-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis. *Blood* 2002;99(12):4326-4335.
23. Schlenk RF, Kayser S, Bullinger L, et al. Differential impact of allelic ratio and insertion site in FLT3-ITD-positive AML with respect to allogeneic transplantation. *Blood*. 2014;124:3441-3449.
24. Linch DC, Hills RK, Burnett AK, et al. Impact of FLT3(ITD) mutant allele level on relapse risk in intermediate-risk acute myeloid leukemia. *Blood* 2014;124:273-6.
25. Kronke J, Bullinger L, Teleanu V, et al. Clonal evolution in relapsed NPM1-mutated acute myeloid leukemia. *Blood* 2013;122:100-108.
26. Perl AE, Altman J, Cortes J, et al. Selective inhibition of FLT3 γ gilteritinib in relapsed or refractory acute myeloid leukaemia: a multicentre, first-in-human, open-label, phase 1-2 study. *Lancet Oncol* 2017;18(8):1061-1075.
27. Rose D, Haferlach T, Schnittger S, et al. Subtype- specific patterns of molecular mutations in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2017; 31:11-17.
28. Schnittger S, Dicker F, Kern W, et al. RUNX1 mutations are frequent in de novo AML with noncomplex karyotype and confer an unfavorable prognosis. *Blood* 2011; 117:2348-2357.
29. Chou WC, Huang HH, Hou HA, et al. Distinct clinical and biological features of de novo acute myeloid leukemia with additional sex comb-like 1 (ASXL1) mutations. *Blood* 2010; 116:4086-4094.
30. Pratcorona M, Abbas S, Sanders MA, et al. Acquired mutations in ASXL1 in acute myeloid leukemia: prevalence and prognostic value. *Haematologica* 2012;97:388-392.
31. Prokocimer M, Mochadsky A, Rotter V. Dysfunctional diversity of p53 proteins in adult acute myeloid leukemia: projections on diagnostic workup and therapy. *Blood* 2017;130:699-712.
32. Gorssman V, Schnittger S, Kohlmann A, et al. A novel hierarchical prognostic model of AML solely based on molecular mutations. *Blood* 2012;120:2963-2972.
33. Middeke JM, Fang M, Cornelissen JJ, et al. Outcome of patients with abn(17p) acute myeloid leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2014;123:2960-2967.
34. Papaemmanuil E, Gersting M, Bullinger L, et al. Genomic classification and prognosis in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2016;374(23):2209-2221.
35. Ayatollahi H, Shajiei A, Sadeghian MH, et al. Prognostic Importance of C-KIT Mutations in Core Binding Factor Acute Myeloid Leukemia: A Systematic Review. *Hematol Oncol Stem Cell Ther* 2017;10(1):1-7.
36. Schuurhuis GJ, Heuser M, Freeman S et al. Minimal/measurable residual disease in AML: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood* 2018;131(12):1275-1291.
37. Shayegi N, Kramer M, Bornhäuser M, et al. Study Alliance Leukemia (SAL). The level of residual disease based on mutant NPM1 is an independent prognostic factor for relapse and survival in AML. *Blood* 2013;122(1):83-92.
38. Krönke J, Schlenk RF, Jensen K-O, et al. Monitoring of minimal residual disease in NPM1-mutated acute myeloid leukemia: a study from the German-Austrian acute myeloid leukemia study group. *J Clin Oncol* 2011;29(19):2709-2716.
39. Ivey A, Hills RK, Simpson MA, et al. UK National Cancer Research Institute AML Working Group. Assessment of minimal residual disease in standard-risk AML. *N Engl J Med* 2016;374(5):422-433.
40. Balsat M, Renneville A, Thomas X, et al. Postinduction minimal residual disease predicts outcome and benefit from allogeneic stem cell transplantation in acute myeloid leukemia with NPM1 mutation: a study by the Acute Leukemia French Association Group. *J Clin Oncol* 2017;35(2):185-193.
41. Jonge-Lavrencic M, Grob T, Haneke D, et al. Molecular Minimal Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia *N Engl J Med* 2018;378:1189-1199.

New therapeutic approaches in the treatment of multiple myeloma

Sikander Ailawadhi

Division of Hematology-Oncology, Mayo Clinic, Jacksonville, FL (USA).

Multiple myeloma (MM) is a clonal plasma cell neoplasm with substantial morbidity and mortality, characterized by end organ damage—renal impairment, hypercalcemia, lytic bony lesions, and anemia.¹ MM is the second most common hematologic malignancy with approximately 140,000 patients diagnosed worldwide in 2016.² The age- standardized incidence rate of MM is 2.1 per 100,000 persons with an increase in incidence by 126% noted globally between the

years 1990 and 2016.² The major contribution to this trend is aging, being noted in the population globally. Some reports at an international level have shown substantial variations in the outcomes of MM across the world, with 5-year overall survival (OS) ranging from only 7.6% in some underprivileged countries like Nigeria, to 50.7% in the United States (US).²⁻⁴

With the development of better therapies, myeloma has changed from an untreatable ailment to one that is still not curable but treatable with mostly outpatient therapy. The treatment of MM has undergone significant changes, with improvement in the outcomes of patients over the recent past.⁴ This has been attributed primarily to development of newer treatment modalities including subsequent generation agents in certain drug classes as well as introduction of several new drug classes, improvement in supportive care strategies, and a better, in-depth knowledge of disease biology.^{5,6} With these ongoing advancements, it is necessary to assess the therapeutic landscape for MM periodically, such that the most evidence-based treatment approaches can be implemented and patient outcomes can continue improving. This review aims to summarize some of the recent advancements in the treatment of MM and casts a brief vision over novel treatment options that may become available in the near future.

General guidelines

Our understanding of the treatment of MM has been shaped by large recent randomized trials conducted internationally, which have shown that utilizing better therapeutic options upfront to achieve a deeper response in newly diagnosed patients is the desirable approach.⁷ This has been supported by the development of effective combination regimens that have improved

survival, even including the median OS in certain cases.⁸ Additionally, supportive care guidelines have been strengthened so that survivorship in MM can be improved optimally and patient's quality of life can be addressed with adequate symptom control, not just the prolongation of life.⁹

Newly diagnosed multiple myeloma

The optimal treatment approach for both young and elderly newly diagnosed MM patients should provide a good balance of efficacy and safety against costs, and quality of life should also be evaluated, since this is not captured by the response criteria. The novel agent-based combinations are resulting in deeper and longer remissions, and we also need optimized tools to monitor our patients (e.g., minimal residual disease [MRD] assessments and novel imaging techniques) in parallel with the development of new drugs in order to offer personalized and optimized treatment. It is well established that depth of response is one of the most important prognostic factors in MM and that the achievement of deep remissions represents a therapeutic goal for a significant fraction of MM patients.¹⁰

Transplant-eligible Patients

The general approach for these patients includes induction therapy that is typically administered over a 4- to 6-month period prior to autologous stem cell transplant (ASCT) or, alternatively, storing stem cells and deferring transplant. Patients who opt against immediate ASCT can proceed to maintenance therapy until disease progression. While several regimens have been evaluated in this setting, the three-drug (triplet) combinations of bortezomib and dexamethasone with thalidomide (VTd),¹¹⁻¹³ lenalidomide (VRd)^{8,14} or cyclophosphamide (VCd).¹⁵ The

specific option may be dependent on the availability of these agents, patient symptoms and comorbidities. Of these, the VCd regimen has recently been shown to provide good initial responses followed by additive benefit from one or even two (tandem) ASCTs.¹⁶ But the regimen that is utilized most frequently in the U.S. and has shown highest benefit in progression-free survival (PFS) with lack of need for any consolidative therapy over and above an ASCT is VRd.¹⁷ Additionally, the combination of carfilzomib with lenalidomide and dexamethasone has shown significant benefit in newly diagnosed (ND) MM patients, especially those with high-risk disease.¹⁸ Still, in the absence of randomized, mature data, this regimen is not yet utilized widely for NDMM patients.

Maintenance therapy

There has been ample data now including a large meta-analysis showing that patients who receive maintenance therapy after an ASCT have improved OS.¹⁹ Recently maintenance data has been presented with ixazomib as well instead of majority of prior studies which have primarily utilized lenalidomide.²⁰ While proteasome inhibitors have shown some benefit in the maintenance setting, the benefit from lenalidomide seems to be more and should be considered standard of care for patients wherever lenalidomide may be available for the purpose of post-ASCT maintenance therapy.

Transplant-ineligible patients

The patients who are transplant-ineligible also really need to benefit from our novel agents. Historically, elderly patients have been given treatment with two-agent (doublet) induction therapy. Prior studies including the FIRST and the MM-015 trials have set the standard of long-duration of therapy rather than

limiting the duration of treatment in patients.^{21,22} Due to the need to balance tolerability with efficacy, a recent trial from Europe has shown that the steroids can actually be discontinued after initial benefit so that the regimen may be more tolerable for patients. This study compared continuous lenalidomide with dexamethasone (Rd) with a dose modified regimen where dexamethasone was discontinued after nine months of treatment with Rd (Rd-R).²³ With this background, the treatment for transplant-ineligible patients truly saw an advancement with the introduction of a triplet VRd regimen, which showed a benefit in median OS of patients in the frontline setting.⁸ Of note, the intent was that the patients who went on this trial would not receive an ASCT. More recently, daratumumab, a CD-38 monoclonal antibody, has received approval by the FDA for treatment of transplant ineligible NDMM patients as part of the daratumumab, bortezomib, melphalan and prednisone (Dara-VMP) regimen.²⁴ As a part of this randomized phase 3 clinical trial (ALCYONE), the Dara-VMP combination was found to have superior PFS as compared with the VMP regimen. While this regimen is now approved and available for treatment of transplant ineligible patients in the U.S., there have been concerns about exposing patients to a four-drug regimen and replacing the proteasome inhibitor-immunomodulatory drug combination (VRd). Forthcoming clinical trials including ones comparing VRd with Dara-VRd may help define treatment for NDMM patients better.

Relapsed refractory multiple myeloma

Treatment of patients with relapsed and/or refractory (RR) MM has seen a transformation with several large, international randomized trials conducted showing the benefit of

triplet regimens over doublets and furthermore, showing that unprecedented depth of response can be reached even in the RRMM setting, something that was only seen in the NDMM setting previously. **Table 1** provides a comprehensive list of all the agents and regimens currently available and utilized for the treatment of RRMM. While taking specific decisions for the management of an individual patient, several patient, disease, prior therapy and symptom-related factors have to be considered so that a tailored approach can be developed for that individual patient. The general guidelines are to use triplet regimens wherever possible. Details of several of these clinical trials and data will be discussed at the time of the presentation at the AMEH symposium, 2019.

REFERENCES

1. Rajkumar SV, Kumar S. Multiple Myeloma: Diagnosis and Treatment. *Mayo Clin Proc* 2016;91(1):101-119.
2. Cowan AJ, Allen C, Barac A, et al. Global Burden of Multiple Myeloma: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *JAMA Oncol* 2018;4(9):1221-1227.
3. Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program Research Data (1973-2015). In: Institute NC ed. DC-CPS, Surveillance Research Program Vol. 2018; 2018.
4. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin* 2019;69(1):7-34.
5. Kumar SK, Dispenzieri A, Lacy MQ, et al. Continued improvement in survival in multiple myeloma: changes in early mortality and outcomes in older patients. *Leukemia* 2014;28(5):1122-1128.
6. Costa LJ, Brill IK, Omel J, Godby K, Kumar SK, Brown EE. Recent trends in multiple myeloma incidence and survival by age, race, and ethnicity in the United States. *Blood Adv* 2017;1(4):282-287.
7. Lahuerta JJ, Paiva B, Vidriales MB, et al. Depth of Response in Multiple Myeloma: A Pooled Analysis of Three PETHEMA/GEM Clinical Trials. *J Clin Oncol* 2017;35(25):2900-2910.
8. Durie BG, Hoering A, Abidi MH, et al. Bortezomib with lenalidomide and dexamethasone versus lenalidomide and dexamethasone alone in patients with newly diagnosed myeloma without intent for immediate autologous stem-cell transplant (SWOG S0777): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet* 2017;389(10068):519-527.
9. Snowden JA, Ahmedzai SH, Ashcroft J, et al. Guidelines for supportive care in multiple myeloma 2011. *Br J Haematol* 2011;154(1):76-103.
10. Paiva B, van Dongen JJ, Orfao A. New criteria for response assessment: role of minimal residual disease in multiple myeloma. *Blood* 2015;125(20):3059-3068.
11. Cavo M, Tacchetti P, Patriarca F, et al. Bortezomib with thalidomide plus dexamethasone compared with thalidomide plus dexamethasone as induction therapy before, and consolidation therapy after, double autologous stem-cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma: a randomised phase 3 study. *Lancet* 2010;376(9758):2075-2085.
12. Moreau P, Avet-Loiseau H, Facon T, et al. Bortezomib plus dexamethasone versus reduced-dose bortezomib, thalidomide plus dexamethasone as induction treatment before autologous stem cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma. *Blood* 2011;118(22):5752-5758; quiz 5982.
13. Rosinol L, Oriol A, Teruel AI, et al. Superiority of bortezomib, thalidomide, and dexamethasone (VTD) as induction pretransplantation therapy in multiple myeloma: a randomized phase 3 PETHEMA/GEM study. *Blood* 2012;120(8):1589-1596.
14. Kumar S, Flinn I, Richardson PG, et al. Randomized, multicenter, phase 2 study (EVOLUTION) of combinations of bortezomib, dexamethasone, cyclophosphamide, and lenalidomide in previously untreated multiple myeloma. *Blood* 2012;119(19):4375-4382.
15. Moreau P, Hulin C, Macro M, et al. VTD is superior to VCD prior to intensive

Table 1. Phase 3 Randomized Clinical Trials in Multiple Myeloma (Adapted with permission from ²⁵)

Reference	Year	Regimen	No. of patients	ORR (%)	≥ VGPR (%)	PFS (months)	HR
Richardson et al ²⁶	2005	Vd D	333	38	7	7.0	0.55
			336	18	1	5.6	
Dimopoulos et al ²⁷	2007	Rd D	176	60.2	24.4	11.3	0.65
			175	24.0	5.1	4.7	
Weber et al ²⁸	2007	Rd D	177	61.0	24.3	11.1	0.35
			176	19.1	1.7	4.7	
Orlowski et al ²⁹	2007	V-PLD D	324	44.0	27.0	9.3	0.55
			322	41.0	19.0	6.5	
Garderet et al ³⁰	2012	VTD TD	135	87.0	56.0	19.5	0.59
			134	72.0	35.0	13.8	
Dimopoulos et al ³¹	2013	V+Vori V	317	56.2		7.6	0.77
			320	40.6		6.8	
San Miguel et al ³²	2013	PD D	302	31.0	6.0	4.0	0.48
			153	10.0	<1.0	1.9	
San Miguel et al ³³	2014	PanoVd Vd	387	60.7	27.6	12.0	0.63
			381	54.6	16.0	8.1	
Stewart et al ³⁴	2015	KRd Rd	396	87.1	69.9	26.3	0.69
			396	66.7	40.4	17.6	
Lonial et al ³⁵	2015	ERd Rd	321	79.0	33.0	19.4	0.70
			325	66.0	28.0	14.9	
Dimopoulos et al ³⁶	2016	Kd Vd	464	77.0	54.0	18.7	0.53
			465	63.0	29.0	9.4	
Moreau et al ³⁷	2016	IRd Rd	360	78.0	48.0	20.6	0.74
			362	72.0	39.0	14.7	
Palumbo et al ³⁸	2016	DVd Vd	251	82.9	59.2	NR 7.2	0.39
			247	63.2	29.1		
Dimopoulos et al ³⁹	2016	DRd Rd	286	92.9	75.8	NR 18.4	0.37
			283	76.4	44.2		

ASCT: autologous stem cell transplant; D: dexamethasone; DRd: daratumumab, lenalidomide, and dexamethasone; DVd: daratumumab, bortezomib, and dexamethasone; ERd: elotuzumab, lenalidomide, and dexamethasone; HR: hazard ratio; IRd: ixazomib, lenalidomide, and dexamethasone; Kd: carfilzomib and dexamethasone; KRd: carfilzomib, lenalidomide, and dexamethasone; NR: not reached; ORR: overall response rate; PanoVD: panobinostat, bortezomib, and dexamethasone; Pd: pomalidomide and dexamethasone; PFS: progression-free survival; Rd: lenalidomide and dexamethasone; TD: thalidomide and dexamethasone; V: bortezomib; Vd: bortezomib and dexamethasone; VGPR: very good partial response; V-PLD: bortezomib, pegylated liposomal doxorubicin, and dexamethasone; VTD: bortezomib, thalidomide, and dexamethasone; V+Vori: bortezomib and vorinostat.

- therapy in multiple myeloma: results of the prospective IFM2013-04 trial. *Blood* 2016;127(21):2569-2574.
16. Cavo M, Beksac M, Dimopoulos MA, et al. Intensification Therapy with Bortezomib-Melphalan- Prednisone Versus Autologous Stem Cell Transplantation for Newly Diagnosed Multiple Myeloma: An Intergroup, Multicenter, Phase III Study of the European Myeloma Network (EMN02/HO95 MM Trial). *Blood* 2016;128:673 (Abstract).
 17. Attal M, Lauwers-Cances V, Hulin C, et al. Lenalidomide, Bortezomib, and Dexamethasone with Transplantation for Myeloma. *N Engl J Med* 2017;376(14):1311-1320.
 18. Gay F, Cerrato C, Scalabrini DR, Galli M, Belotti A, Zamgani E. Carfilzomib-Lenalidomide- Dexamethasone (KRd) Induction-Autologous Transplant (ASCT)-Krd Consolidation Vs Krd 12 Cycles Vs Carfilzomib-Cyclophosphamide-Dexamethasone (KCd) Induction-ASCT-Kcd Consolidation: Analysis of the Randomized Forte Trial in Newly Diagnosed Multiple Myeloma (NDMM). *Blood* 2018;132:121 (Abstract).
 19. McCarthy PL, Holstein SA, Petrucci MT, et al. Lenalidomide Maintenance After Autologous Stem- Cell

- Transplantation in Newly Diagnosed Multiple Myeloma: A Meta-Analysis. *J Clin Oncol* 2017;35(29):3279-3289.
20. Dimopoulos MA, Gay F, Schjesvold F, et al. Oral ixazomib maintenance following autologous stem cell transplantation (TOURMALINE-MM3): a double-blind, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet* 2019;393(10168):253-264.
 21. Facon T, Dimopoulos MA, Dispenzieri A, et al. Final analysis of survival outcomes in the phase 3 FIRST trial of up-front treatment for multiple myeloma. *Blood* 2018;131(3):301-310.
 22. Palumbo A, Hajek R, Delforge M, et al. Continuous lenalidomide treatment for newly diagnosed multiple myeloma. *N Engl J Med* 2012;366(19):1759-1769.
 23. Larocca A, Salvini M, De Paoli L, et al. Efficacy and Feasibility of Dose/Schedule-Adjusted Rd-R Vs. Continuous Rd in Elderly and Intermediate-Fit Newly Diagnosed Multiple Myeloma (NDMM) Patients: RV-MM-PI-0752 Phase III Randomized Study. *Blood* 2018;132:305 (Abstract).
 24. Mateos MV, Dimopoulos MA, Cavo M, et al. Daratumumab plus Bortezomib, Melphalan, and Prednisone for Untreated Myeloma. *N Engl J Med* 2018;378(6):518-528.
 25. Dingli D, Ailawadhi S, Bergsagel PL, et al. Therapy for Relapsed Multiple Myeloma: Guidelines From the Mayo Stratification for Myeloma and Risk-Adapted Therapy. *Mayo Clin Proc* 2017;92(4):578-598.
 26. Richardson PG, Sonneveld P, Schuster MW, et al. Bortezomib or high-dose dexamethasone for relapsed multiple myeloma. *N Engl J Med* 2005;352(24):2487-2498.
 27. Dimopoulos MA, Chen C, Spencer A, et al. Long-term follow-up on overall survival from the MM-009 and MM-010 phase III trials of lenalidomide plus dexamethasone in patients with relapsed or refractory multiple myeloma. *Leukemia* 2009;23(11):2147-2152.
 28. Weber DM, Chen C, Niesvizky R, et al. Lenalidomide plus dexamethasone for relapsed multiple myeloma in North America. *N Engl J Med* 2007;357(21):2133-2142.
 29. Orlowski RZ, Nagler A, Sonneveld P, et al. Randomized phase III study of pegylated liposomal doxorubicin plus bortezomib compared with bortezomib alone in relapsed or refractory multiple myeloma: combination therapy improves time to progression. *J Clin Oncol* 2007;25(25):3892-3901.
 30. Garderet L, Iacobelli S, Moreau P, et al. Superiority of the triple combination of bortezomib-thalidomide-dexamethasone over the dual combination of thalidomide-dexamethasone in patients with multiple myeloma progressing or relapsing after autologous transplantation: the MMVAR/IFM 2005-04 Randomized Phase III Trial from the Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *J Clin Oncol* 2012;30(20):2475-2482.
 31. Dimopoulos M, Siegel DS, Lonial S, et al. Vorinostat or placebo in combination with bortezomib in patients with multiple myeloma (VANTAGE 088): a multicentre, randomised, double-blind study. *Lancet Oncol* 2013;14(11):1129-1140.
 32. Miguel JS, Weisel K, Moreau P, et al. Pomalidomide plus low-dose dexamethasone versus high-dose dexamethasone alone for patients with relapsed and refractory multiple myeloma (MM-003): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013;14(11):1055-1066.
 33. San-Miguel JF, Hungria VT, Yoon SS, et al. Panobinostat plus bortezomib and dexamethasone versus placebo plus bortezomib and dexamethasone in patients with relapsed or relapsed and refractory multiple myeloma: a multicentre, randomised, double-blind phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014;15(11):1195-1206.
 34. Stewart AK, Rajkumar SV, Dimopoulos MA, et al. Carfilzomib, lenalidomide, and dexamethasone for relapsed multiple myeloma. *N Engl J Med* 2015;372(2):142-152.
 35. Lonial S, Weiss BM, Usmani SZ, et al. Daratumumab monotherapy in patients with treatment-refractory multiple myeloma (SIRIUS): an open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet* 2016;387(10027):1551-1560.
 36. Dimopoulos MA, Moreau P, Palumbo A, et al. Carfilzomib and dexamethasone versus bortezomib and dexamethasone for patients with relapsed or refractory multiple myeloma (ENDEAVOR): a randomised, phase 3, open-label, multicentre study. *Lancet Oncol* 2016;17(1):27-38.
 37. Moreau P, Masszi T, Grzasko N, et al. Oral ixazomib, lenalidomide, and Dexamethasone for Multiple Myeloma. *N Engl J Med* 2016;374(17):1621-1634.
 38. Palumbo A, Chanan-Khan A, Weisel K, et al. Daratumumab, Bortezomib, and Dexamethasone for Multiple Myeloma. *N Engl J Med* 2016;375(8):754-766.
 39. Dimopoulos MA, Oriol A, Nahi H, et al. Daratumumab, Lenalidomide, and Dexamethasone for Multiple Myeloma. *N Engl J Med* 2016;375(14):1319-1331.

Tratamiento del linfoma folicular

Nidia Paulina Zapata-Canto
 Instituto Nacional de Cancerología.
 Centro Oncológico Diana Laura
 Rioja de Colosio, Fundación Clínica
 Medica Sur, Ciudad de México.

Introducción

Sabemos que es el linfoma indolente más común en todo el mundo, el cual se caracteriza por una manifestación clínica heterogénea. Se considera incurable.

Es una de las enfermedades en que todavía puede utilizarse el vigilar y esperar, en donde los criterios de Groupe d'Etude para hacer el diagnóstico diferencial entre alta carga tumoral vs baja carga tumoral los cuales son los siguientes:

- Síntomas B
- Tumor nodal o extranodal con diámetro > 7cm
- Afección de 3 o más sitios nodales con diámetro > 3 cm
- Efusión pleural o ascitis
- Esplenomegalia

- Leucocitos < mil
- Plaquetas < 100 mil
- Células malignas circulantes > 5/mL

Entre las clasificaciones pronósticas tenemos el FLIPI y el FLIPI2; sin embargo, muchos de los avances del linfoma folicular es la secuenciación de ADN, lo que nos ha llevado a entender más el comportamiento de la enfermedad, en términos clínicos y biológicos, lo que también planea mejores escalas pronósticas y tratamientos dirigidos.¹

Debido a que la enfermedad tiene un curso heterogéneo, lleva a tener un tratamiento más personalizado de la enfermedad.

Para determinar cuál será la mejor opción terapéutica para nuestros pacientes es importante conocer: edad, desempeño físico, estadio clínico, objetivo del tratamiento.

Esto nos sirve para decidir entre ver y esperar, anticuerpo anti CD20, anti CD20 más quimioterapia, entre otros.

Tratamientos

Entre los tratamientos de los pacientes con linfoma folicular los vamos a dividir entre aquéllos con baja carga tumoral y aquéllos con alta carga tumoral.

Donde se cuestiona el beneficio del rituximab de mantenimiento en aquellos pacientes que recibieron rituximab como terapia de inducción vs mantenimiento en los pacientes con bajas carga tumoral, demostrado en el estudio RESORT. Para aquéllos pacientes con alta carga tumoral es importante hacer hincapié si el objetivo del tratamiento es por la quimioterapia una toxicidad incrementada en un periodo corto de tratamiento para un periodo mayor en remisión.

Entre las quimioterapias intensivas para los pacientes con alta carga tumoral tenemos: R-CHOP (rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona), R-CVP

(rituximab, ciclofosfamida, vincristina, prednisona), R-bendamustina (rituximab), o combinaciones con obinutuzumab, lenalidomida.^{2,3}

La prescripción de bendamustina en el linfoma folicular ha tenido un curso interesante por que en combinación con obinutuzumab le valió la aprobación para primera línea en linfoma folicular por demostrar mejoría en la supervivencia global comparada con bendamustina sola.^{4,5}

Lenalidomida

Este inmunomodulador se ha prescrito en combinación con anticuerpos monoclonales como el o obinutuzumab en pacientes con enfermedad avanzada vírgenes a tratamiento con buenas respuestas, con periodos libres de progresión.⁶

Inhibidores PI3K

El idelalisib es un inhibidor delta oral prescrito a pacientes con linfoma folicular recaídos con respuesta global de 54%. La isoforma alfa y beta están expresados en muchos de los tejidos del cuerpo, la alfa en las vías de señalización de la insulina y la delta se expresa en linfocitos y regula la función de los linfocitos T. Otro inhibidor es el copanlisib es un pan inhibidor. Duvelisib es un inhibidor delta y gamma, umbralisib delta y casen quinasa 1epsilon (**Cuadro 1**).⁷

Inmunoterapia

Estos medicamentos han sido probados en pacientes doble resistentes, es decir, a un anti CD-20, así como

también a un alquilante, tenemos el ligando de la proteína de la muerte celular programada (PDL-1, atezolizumab) y la proteína de la muerte celular (PD-1, nivolumab, pembrolizumab). Estos medicamentos están siendo actualmente evaluados en combinaciones con anti CD20 y con otros medicamentos.⁷

Células CAR T

La importancia de las células T como terapia celular está teniendo mucho auge en todas las enfermedades hematológicas, esto se debe a que en cáncer estas células no pueden reconocer y atacar a las células neoplásicas, porque las células malignas pierden la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad. Gracias a investigaciones del inmunólogo Carl June desarrolla las células CAR T utilizadas inicialmente en pacientes con virus de la inmunodeficiencia humana para posteriormente utilizarlas en enfermedades hematológicas. Siendo el receptor de superficie utilizado en muchos linfomas es el CD19; sin embargo, se siguen realizando estudios de investigación con innovaciones y mejorías en las técnicas y en las células para tener menores efectos adversos.⁸

Ibrutinib

El inhibidor de la tirosin cinasa de Bruton es un medicamento que como los otros han venido a revolucionar el tratamiento de las neoplasias de células B, éste se ha probado en recaídos y resistentes solo o combinado. Una de las

Cuadro 1. Inhibidores PI3K

PI3K	Alfa	Beta	Gamma	Delta	Casein 1epsilon
Idelalisib			X		
Copanlisib	XX	X	X	XX	
Duvelisib			X	X	
umbralisib			X		X

combinaciones prescritas es con obinutuzumab por 6 ciclos y posteriormente mantenimiento por 2 años con buenos resultados, es una combinación tolerada.⁹

Inhibidor EZH2 (tazemetostat)

Inhibidor del homólogo 2 de zeste, que tiene función importante en la fisiopatogenia de los pacientes con linfoma folicular. Los pacientes con linfoma folicular tienen esta mutación en 25% de los casos. Actualmente se están realizando estudios en conjunto con las células CART para tratar estos pacientes en los casos de linfomas en recaída o resistentes.⁷

REFERENCIAS

1. Tan D, et al. Improvements in observed and relative survival in follicular grade 1-2 lymphoma during 4 decades: the Stanford University experience. *Blood* 2013;122(6):981-987.
2. Leonard J, et al. Where to start? Upfront Therapy for follicular lymphoma in 2018. Educational book 2018.
3. Christopher R. Flowers, et al. Novel immunotherapy approaches to follicular lymphoma. Educational Book 2018
4. Cheson BD, Chua N, Mayer J, et al. Overall survival benefit in patients with rituximab-refractory indolent non-Hodgkin lymphoma who received obinutuzumab plus bendamustine induction and obinutuzumab maintenance in the GADOLIN Study. *J Clin Oncol* 2018;36(22):2259-2266.
5. Flinn IW, van der Jagt R, Kahl BS, et al. Randomized trial of bendamustine-rituximab or R-CHOP/R-CVP in first-line treatment of indolent NHL or MCL: the BRIGHT study. *Blood* 2014;123(19): 2944-2952.
6. Morschhauser F, et al. Phase II Lysa study of Obinutuzumab combined with lenalidomide for advanced untreated Follicular lymphoma. *Blood* 2018;132, 449.
7. Loretta J. Nastoupi, et al. Sequencing of therapies in relapsed follicular lymphoma. Educational Book 2018.
8. Borchmann Peter. Lymphoma immunotherapy: Efficacy, safety, and accessibility to CAR-T therapy for lymphomas. HemaSphere Educational Updates in Hematology Book | 2018; 2(S2).
9. Schmidt C, et al. Chemotherapy Free Combination of oninutuzumab and ibrutinib in First Line treatment of follicular lymphoma. The Alternative study by the German Low grade lymphoma study Group. *Blood* 2018;132:448.

Linfoma de células del manto

Myrna Gloria Candelaria-Hernández,¹ Rodrigo Castillo-Llanos,² Hannali Quintero-Buenrostro³

¹ Investigador en Ciencias Médicas.

² Residente de Hematología.

³ Residente de Hematopatología. Instituto Nacional de Cancerología, Ciudad de México.

Definición y clasificación

El linfoma de células del manto (LCM) tiene incidencia en países occidentales de 1-2 casos por 100,000 personas/año y constituye aproximadamente 6-9% de todos los linfomas. Este trastorno linfoproliferativo de células B se produce por la translocación (11;14)(q13;q32) que permite la sobreexpresión de la ciclina D1. La clasificación de la OMS reconoce dos variedades clínicas:

- 1 Presentación clásica, compuesta de células B, sin mutaciones en *IGHV* y expresión del factor de transcripción SOX11. Afecta sitios nodales y extranodales.
- 2 La presentación leucémica, se desarrolla a partir del centro germinal, con hipermutación *IGHV* y carece o tiene mínima expresión de SOX11. Afecta sangre periférica, médula ósea y bazo.

En la **Figura 1** se muestran las características histológicas de la variante clásica, con la expresión de ciclina D1 y SOX 11.

Pronóstico

Los factores clínicos y biológicos de pronóstico más importantes son el índice pronóstico internacional de linfoma de manto (MIPI) y la tasa de proliferación, evaluada por el porcentaje de Ki67. Recientemente, estos parámetros se han combinado en la escala MIPI c, para definir 4 grupos de riesgo (**Cuadro 1**), con supervivencia de 1.8 a 9.5 años. La existencia de delecciones en TP53 y CDKN2 también disminuye la mediana de SG de 7 a 1.8 años.

Biología

La translocación t(11;14), que juxtapone el gen CCND1 con el gen de cadena pesada de inmunoglobulinas, se considera el evento oncogénico inicial que permite la sobreexpresión de la ciclina D1. Se han descrito varios mecanismos implicados en la oncogénesis de LCM, entre los más importantes están:

- 1 La ciclina D1 forma un complejo con CDK4 y CDK6, que fosforila e inactiva a la proteína de retinoblastoma (RB), ello libera al factor de transcripción E2F y promueve la transición de la fase G1-S en el ciclo celular. La ciclina D1 también está implicada en mecanismos de reparación del ADN y de regulación transcripcional: la ciclina D1, en coexpresión de oncogenes como MYC induce proliferación celular y linfomagenesis.
- 2 Mutaciones de los genes *ATM* y *p53*, que tienen un papel fundamental en la respuesta al daño del ADN y regulación de apoptosis, son responsables de la oncogénesis en LCM.

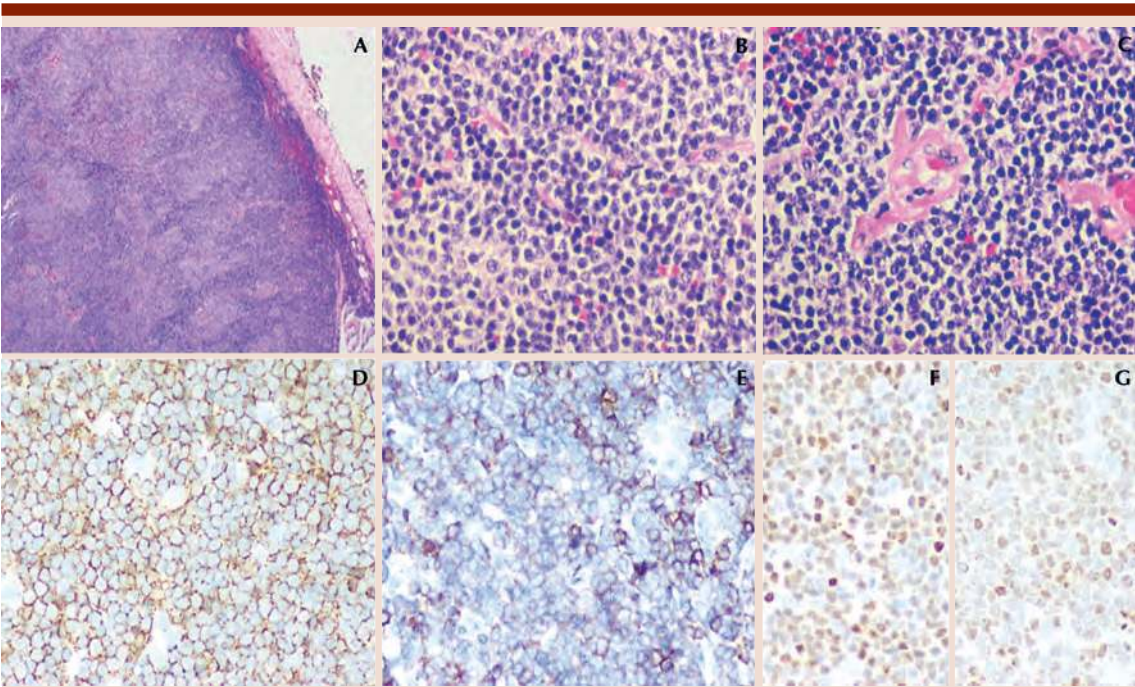


Figura 1. Linfoma de células del manto en el párpado inferior. **A.** Se observa infiltración linfóide vagamente nodular y difusa (5x), compuesta por células linfoides pequeñas, monótonas con núcleos irregulares con escasos nucléolos conspicuos (**B**) y vasos hialinizados (**C**). Inmunohistoquímica: positividad a CD20 (**D**), CD5 (**E**), ciclina D1 (**F**) y SOX11 (**G**).

Cuadro 1. Pronóstico en pacientes con linfoma de células del manto

Categoría: MIPI c	MIPI	Ki 67	Mediana SG (años)
Bajo	MIPI bajo	< 30%	9.4
Intermedio bajo	MIPI bajo	> 30%	4.9
	MIPI intermedio	< 30%	
Intermedio alto	MIPI intermedio	> 30%	3.2
	MIPI alto	< 30%	
Alto	MIPI alto	> 30%	1.8

3 Alteraciones en apoptosis: se ha detectado sobreexpresión de proteínas antiapoptóticas y delección de *BCL2L11*, que codifica para BIM, cuya función es proapoptótica. Recientemente, también se ha descrito que la disminución de la expresión de la E3 ubiquitin-ligasa FBXO10, cuyo blanco es

la degradación de BCL2. Adicionalmente BCL2 es un blanco para el gen NFκ-B, que se encuentra activado de forma constitutiva en LCM.

4 Mutaciones en los reguladores de modificadores de cromatina, como *WHSC1*, que codifican para la metiltransferasa de H3K36, *MLL2* que codifica para la

metiltransferasa de H3K4 y *MEF2B* que codifica un factor de transcripción.

- 5 Vía del factor nuclear-kappa B (NF-κB): Las señales a través del receptor de células B (RCB) activan al tirocino-cinasa de Bruton (BTK) y protein-cinasa K (PKC), con la formación del complejo Card11-BCL10-MALT1 (CBM), que promueve río abajo el complejo IKK.
- 6 Aproximadamente 10% de los LCM tienen mutaciones de NOTCH1, con efecto adverso en supervivencia.

Tratamiento
“Watch and wait”. Se ha definido un subgrupo de pacientes con curso indolente, que se benefician de una conducta expectativa. Los factores a considerar para ello son: adecuado

desempeño físico, ausencia de síntomas B, DHL normal, enfermedad no voluminosa, morfología no blastoide y Ki67 < 30%.

Tratamiento activo. No existe un tratamiento estándar de primera línea; el manejo actual se basa en la edad y desempeño físico del paciente. Los pacientes “fit” reciben tratamiento combinado con rituximab y pueden consolidarse con autotrasplante. Los adultos mayores, se tratan en general, con quimio-inmunoterapia con o sin mantenimiento con rituximab.

En el **Cuadro 2** se resumen los esquemas de inducción aceptados para pacientes jóvenes que tienen desempeño físico adecuado “fit”. Los esquemas recomendados en adultos mayores se resumen en el **Cuadro 3**.

En conocimiento de mutaciones y eventos epigenéticos alterados en LCM ha permitido el desarrollo de terapias dirigidas en esta enfermedad. En la actualidad bortezomib, lenalidomida, temsirolimus, ibrutinib se han aprobado por la FDA, EMA o ambas para el tratamiento de LCM (**Cuadro 4**).

LECTURAS RECOMENDADAS

1. Dreyling M, Klapper W, Rule S. Blastoid and pleomorphic mantle cell lymphoma: still a diagnostic and therapeutic challenge. *Blood* 2018;132:2722-29.
2. Hoster E, Rosenwald A, Berger F, et al. Prognostic value of Ki-67 Index, Cytology, and Growth Pattern in Mantle-Cell Lymphoma: Results From Randomized Trials of the European Mantle Cell Lymphoma

Network. *J Clin Oncol* 2016;34:1386-1394.

3. Merolle M, Ahmed M, Nomie K, Wang M. The B cell receptor signaling pathway in mantle cell lymphoma. *Oncotarget* 2018;9:25332-25341.
4. Maddocks K. Update on mantle cell lymphoma. *Blood* 2018;132:1647-1656.
5. Smith S, Gandhi S, Gopal AJ, et al. Modified VR-CAP, Alternating with Rituximab and High-dose Cytarabine: An Effective Pretransplant Induction Regimen for Mantle Cell Lymphoma. *Clin Lymph Myel Leuk* 2019;19:48-52.
6. Vogt H, Dai B, Erdmann T, Berdel W, Lenz G. The molecular pathogenesis of mantle cell lymphoma. *Leukemia & Lymphoma* 2017;58:1530-1537.
7. WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues/edited by Setevan H. Swerdlow, Elias Campo, Nancy Lee Harris, Elaine S Jaffe, Stefano A Pileri, Harald Stein, Jürgen Thiele. Revised 4th edition. 2017.

Cuadro 2. Tratamiento de pacientes elegibles a trasplante

Inducción	Consolidación	N	ORR (RC) %	SLP 5 a	SG 5 a
Fase 2					
R-HyperCVAD	NA	97	97 (87)	49 %	52 %
R-HyperCVAD	NA	49	86 (58)	49 %	63 %
R-HyperCVAD	NA	60	83 (72)	61 %	73 %
R-maxiCHOP + RHiDAC	Autólogo	160	94 (54)	66 %	70 %
BR/RHiDAC	Autólogo	60/23	95(57)/96 (96)	96 %	75/100
RCHOP vs RCHOP/RD-HAP	Autólogo	455	95 vs 97 (63 vs 61)	Mediana 7.3 a.	No alcanzado a 6.8 a.
RDHAP	Autólogo vs autólogo + mtto Rtx.	299		-	64 vs 83%

Cuadro 3. Tratamiento de adultos mayores, no elegibles a trasplante

Esquema	Pacientes	ORR	RC	Supervivencia libre de progresión
RCHOP vs RFC	455	86 vs 78	34 vs 40	28 vs 26 m
RCHOP vs RB	94	91 vs 93	30 vs 40	22.1 vs 35.4 m
RCHOP vs VRCAP	487	89 vs 92	42 vs 53	14.4 vs 24.7 m

Cuadro 4. Tratamientos dirigidos en LCM

Fármaco	Resultados
Ibrutinib	RG: 68%, SLE: 13-14 meses
Acalabrutinib	RG: 81%, RC 40%
Lenalidomida	RG: 28-40%, SLE: 4-8 meses
Bortezomib	RG: 32-41%, SLE: 6.5 meses
Temsirolimus	RG: 22-40%, SLE: 4.8-6.2 meses
Rituximab/Ibrutinib	RG: 88%, RC 40 % SLE: 13-14 meses
Lenalidomida/rituximab	RG: 68%, SLE: 43 meses
Bortezomib/rituximab	RG: 88%, SLE: 12 meses
Venetoclax	RG: 75%, SLE: 14 meses
Venetoclax/ibrutinib	RG: 71%, RC 71%, SLE 57%

RG: respuesta global; RC: respuesta completa; SLE: supervivencia libre de enfermedad.

Abordaje diagnóstico de trombocitopenia en niños

Lourdes Cecilia Correa-González
Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto, San Luis Potosí, SLP, México.

La trombocitopenia en niños puede ser hereditaria o adquirida. La causa más frecuente es la adquirida. Autoinmune: trombocitopenia inmune primaria. Infecciones: VIH, VHC, CMV, sepsis por meningococo. Enfermedades autoinmunitarias: lupus eritematoso generalizado, síndrome antifosfolipídico. Neoplasias malignas. Vacunas recientes. Medicamentos. Enfermedad hepática. Enfermedades que afectan la médula ósea: leucemias, anemia aplásica, anemia megaloblástica, síndromes mielodisplásicos, fibrosis. Transfusiones recientes. Heredadas: síndrome de trombocitopenia y radio ausente (TAR), sinostosis radioulnar, trombocitopenia amegacariocítica congénita, síndrome de Wiskott-Aldrich, enfermedad relacionada MYH9, síndrome de Bernard Soulier, enfermedad de Von Willebrand tipo IIB. La trombocitopenia heredada debería considerarse en antecedente familiar de trombocitopenia o trastornos hemorrágicos y en trombocitopenia de larga duración que no responde al tratamiento.

La causa mas frecuente de trombocitopenia en niños es la trombocitopenia autoinmunitaria. La trombocitopenia inmunitaria primaria (TIP) es una diátesis hemorrágica adquirida, autoinmunitaria, que resulta de la destrucción plaquetaria prematura, producción plaquetaria reducida o la combinación de ambas. Se define como trombocitopenia aislada $< 100,000/\mu\text{L}$ en ausencia de una enfermedad o causa desencadenante identificada. Se manifiesta en todos los grupos de edad, con pico entre 2 a 5 años y un segundo pico en la

adolescencia, un leve predominio en niños que en niñas, sobre todo en lactantes. La incidencia en niños es de aproximadamente 1.9 a 6.4 casos por 100,000 niños por año. Se ha reportado una tendencia estacional, con mayor frecuencia en primavera y menor en otoño. El inicio de la TIP en niños y adultos tiene diferentes características clínicas y de laboratorio.

Típicamente se manifiesta con inicio súbito, en un niño previamente sano, con la aparición de equimosis y petequias. En dos tercios de los pacientes pediátricos hay antecedente de una infección viral. En la historia natural de la trombocitopenia inmunitaria primaria en niños se ha identificado que dos tercios de los pacientes se recuperan espontáneamente en los primeros seis meses; la posibilidad de remisión es alta entre los 3 y 12 meses, e incluso puede ser mas tardía. De acuerdo con el tiempo de recuperación se clasifica como de reciente diagnóstico (desde el momento del diagnóstico hasta los 3 meses de evolución), persistente (dura entre 3 y 12 meses) y crónica que se prolonga mas de 12 meses desde el diagnóstico.

Se debe buscar la causa de la trombocitopenia y el diagnóstico de TIP debe ser de exclusión al descartar causas de TIP secundaria, porque no hay un parámetro clínico o de laboratorio que permita establecer este diagnóstico de certeza. Los síntomas y signos clínicos son muy variados, en ocasiones es un hallazgo en una biometría hemática (BH) realizada por otra causa, no siempre hay correlación entre la cifra de plaquetas y las manifestaciones hemorrágicas, aunque el riesgo es mayor con cifras $< 10,000/\mu\text{L}$. Los pacientes pueden estar asintomáticos o tienen petequias o equimosis aisladas en la piel o las mucosas. Algunos casos pueden tener manifestaciones mas graves, con

hemorragias cutáneas, mucosas, gastrointestinales o incluso intracraneales (0.1-0.5%). Hay factores adicionales que afectan el riesgo de hemorragia, como la edad, el estilo de vida, el nivel de actividad y todos estos factores deben tomarse en cuenta al decidir el tratamiento adecuado.

En 2011, Neunert y colaboradores de la ASH publicaron una actualización de las Guías prácticas basadas en evidencia para el diagnóstico y tratamiento de la TIP en niños (usando el sistema GRADE).

En el abordaje diagnóstico para los casos de reciente diagnóstico emiten las siguientes recomendaciones: No es necesario examinar la médula ósea en niños y adolescentes con las características típicas de TIP (grado 1B).

No es necesario examinar la médula ósea en niños que fallan al tratamiento con inmunoglobulina IV (grado 1B).

Recomiendan: el examen de la médula ósea no es necesario en pacientes similares previo al inicio de tratamiento con esteroides o antes de esplenectomía (grado 2C). No es necesario la prueba de anticuerpos antinucleares en la evaluación de niños y adolescentes con sospecha de TIP (grado 2C).

Para los niños con TIP persistente y crónica están en contra de realizar de rutina pruebas para detectar *H. pylori* (grado 1B).

La historia clínica completa que incluya antecedentes de infección previa o vacunación, interrogar si hay fiebre, dolor articular, antecedente familiar de trombocitopenia, factores de riesgo de infección por VIH. La exploración física detallada debe buscar alteraciones morfológicas esqueléticas o de tejidos blandos, exantema no petequeal, descartando visceromegalias y adenomegalias.

La revisión de una biometría hemática completa con la revisión

del frotis de sangre periférica son los únicos estudios necesarios. Detectar anomalías en la concentración de hemoglobina, en la cuenta de leucocitos o anomalías en la morfología de leucocitos no es típico de TIP y obliga a realizar un examen de médula ósea. La eosinofilia leve es un hallazgo común.

No hay evidencia suficiente para recomendar en TIP la búsqueda rutinaria de anticuerpos antiplaquetarios, antifosfolípidos y antinucleares, concentraciones de trombopoyetina o parámetros plaquetarios obtenidos de equipos automatizados.

Calpin y colaboradores, en un estudio retrospectivo de 332 niños y adolescentes con los datos clínicos y de laboratorio típicos de TIP, no

encontraron ningún caso de leucemia aguda y un caso de aplasia medular.

El **Cuadro 1** muestra otros estudios en caso de sospechar otras causas de trombocitopenia no autoinmunitarias, o en caso de trombocitopenia crónica que no responde a tratamiento, incluyen:

La hemorragia grave que amerita hospitalización, transfusión sanguínea o ambas en niños con TIP es rara y afecta a 3% de niños con TIP. La complicación más temida es la hemorragia intracraneal (0.1-0.8%) y los pacientes generalmente tienen antecedente de traumatismo craneal, púrpura húmeda y cuenta plaquetaria $< 10 \times 10^9/L$.

Se ha intentado establecer un sistema de calificación que mida la extensión de la hemorragia en

un intento de estandarizar las decisiones de tratamiento y vigilar la respuesta plaquetaria (**Cuadro 2**). Bolton-Meggs y Moon clasificaron los signos de hemorragia en cuatro categorías: ninguno, leve, moderado y grave.

Buchanan y Adix desarrollaron un sistema de medición de la hemorragia semicuantitativo basado en la exploración física y los datos de sangrado las 24 horas previas.

Edslev y colaboradores propusieron un índice clínico basado en 6 características clínicas con peso pronóstico y que ayudan en la decisión de tratar o en la posibilidad de evolucionar a la cronicidad.

Los factores que predicen cronicidad son: mayor edad, sin antecedente de infección reciente, mayor cuenta plaquetaria inicial, inicio lento, marcadores inmunológicos anormales.

Cuadro 1.

Evaluación básica	Causas inmunológicas
Antecedentes del paciente	Anticuerpos antifosfolípidos, anticardiolipina, anticoagulante lúpico, anticuerpos antitiroideos y pruebas de función tiroidea, anticuerpos antinucleares
Antecedente familiar	PCR viral para CMV y parvovirus
Examen físico	
BHC y cuenta de reticulocitos	
Frotis de sangre periférica	
Concentraciones de inmunoglobulinas	
Examen de médula ósea	
Grupo sanguíneo y Rh	
Coombs directo	
HIV, VHC, <i>H. pylori</i>	

Cuadro 2.

Bolton, Maggs y Moon	Buchanan y Adix	Edslev y Cols
Asintomático	Grados de hemorragia las 24 hs previas y el EF	Escala basada en 6 características clínicas
Leve: equimosis y petequias	Grado 0-5	Inicio abrupto (5)
Epistaxis menor ocasional	Ninguna	Edad < 10 años (3)
Muy poca o ninguna interferencia con la vida diaria.	menor	Infección precedente (2)
Moderada: manifestaciones en piel más graves con algunas lesiones mucosas, epistaxis más grave y menorragia.	Leve	Plaquetas $< 5 \times 10^9/L$ (1)
	Moderada	Púrpura húmeda (1)
	Grave	Genero masculino (1)
Grave: episodios de hemorragia (epistaxis, melena, menorragia que requiere hospitalización, transfusión sanguínea o ambas.	Fatal o pone en riesgo la vida	
Síntomas que interfieren seriamente con la calidad de vida	Hemorragia de piel (0-4)	Calificación 10-14 identifica bajo riesgo
	Epistaxis (0-4)	
	Hemorragia oral (0-4)	
	Hemorragia generalizada (0-5)	

BIBLIOGRAFÍA

1. Neunert C, Lim W, Crowther M, et al. The American Society of Hematology 2011 evidence-based practice guideline for immune thrombocytopenia. *Blood* 2011;117:4190-4207.
2. Provan D, Stasi R, Newland AC, et al. International consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. *Blood* 2010;115:168-186.

3. Roganovic J. Immune Thrombocytopenia in Children. *Medical Sciences* 2015; 42: 59-72.
4. Mahabir V, Ross C, Popovic S et al. A blinded study of bone marrow examinations in patients with primary immune thrombocytopenia. *Eur J Haematol* 2013;90:121-126.
5. Monteagudo E, Fernandez-Delgado R, Sastre A y cols. Protocolo de estudio y tratamiento de la trombocitopenia inmune primaria (PTI-2010). *An Pediatr* 2011;74:414e1-414e8.
6. Calpin C, Dick P, Poon A, Feldman W. Is bone marrow aspiration needed in acute childhood idiopathic thrombocytopenic purpura to rule out leukemia? *Arch Pediatr Adolesc Med* 1998;152:345-347.
7. Bolton-Maggs PH, Moon I. Assessment of UK practice for management of acute childhood idiopathic thrombocytopenic purpura against published guidelines. *Lancet* 1997;350:620-623.
8. Buchanan GR, Adix L. Grading of hemorrhage in children with idiopathic thrombocytopenic purpura. *J Pediatr* 2002;141:683-688.
9. Edslev PW, Rosthøj S, Treutiger I, et al. NOPHO ITP Working Group. A Clinical score predicting a brief and uneventful course of newly diagnosed idiopathic thrombocytopenic purpura in children. *Br J Haematol* 2007;138:513-516.
10. Jung JY, Rum A, Keong J et al. Clinical course and prognostic factors of childhood immune thrombocytopenia: single center experience of 10 years. *Korean J Pediatr* 2016;59:335-340.
11. Althaus K, Greinacher A. MYH9-Related Platelet Disorders. *Semin Thromb Hemost* 2009;35:189-203.

Interpretación clínica de los estudios de citometría de flujo para tipificar hemopatías malignas. Anormalidades que permiten la discriminación de las hemopatías malignas

Alejandro Ruiz-Argüelles,¹ Omar Cano-Jiménez²

¹ Director del Centro de Procesos y Proyectos Especiales.

² Supervisor del Departamento de Citómica.

Laboratorios Ruiz, Puebla, Puebla, México.

Introducción

En las presentaciones anteriores, se han descrito las estrategias que se emplean en la citometría de flujo para identificar células sanguíneas, así como el uso del fenotipo inmunológico para analizar la hematopoyesis. En esta sección se describen las características celulares que permiten discriminar a los elementos neoplásicos de sus pares normales en el tejido hematopoyético o sanguíneo. Para poder entender mejor estos criterios, es menester aclarar algunos conceptos básicos de la biología de las células leucémicas.

1 Las células leucémicas, particularmente las inmaduras, son fenotípicamente heterogéneas. Así, no es infrecuente encontrar que, dentro de una población neoplásica, algunas células expresen intensamente un determinado antígeno y otras no lo hagan o lo hagan de manera muy tenue. También es común encontrar que una misma población muestre distintos grados de maduración. Las neoplasias de células maduras suelen ser bastante más homogéneas.

2 Las células leucémicas excepcionalmente tienen el mismo fenotipo que las células normales. La heterogeneidad biológica propia de las células malignas, condiciona que su expresión antigénica sea diferente de aquella de las células hematopoyéticas normales. Las neoplasias de células maduras sí pueden tener un fenotipo si no idéntico, sí muy semejante al de sus

contrapartes normales. Estas peculiaridades tienen implicaciones en la sensibilidad de los métodos citométricos para la detección de células residuales en pacientes tratados.

Estas dos premisas son la base para planear las estrategias que permiten la discriminación de las células neoplásicas, lo que es particularmente importante en los casos de pacientes ya tratados, en los que se pretende identificar y cuantificar una masa tumoral residual muy pequeña, imbuída en una gran cantidad de células hematopoyéticas normales.

Las aberraciones fenotípicas que permiten identificar a las células neoplásicas pueden dividirse en cinco categorías que no son necesariamente excluyentes. Cuando una población neoplásica presenta más de una de estas aberraciones, hay mayor certeza de su carácter neoplásico.

Alteraciones numéricas o de abundancia

Se refiere a la existencia de una población en cantidad totalmente desproporcionada a los elementos normales. Suele ser un hallazgo en momento del inicio de la enfermedad y representa una gran masa tumoral que infiltra y sustituye al tejido hematopoyético normal. La **Figura 1** muestra un ejemplo.

Aberraciones en la intensidad de la expresión de un antígeno

Es común que las células neoplásicas expresen algún antígeno con intensidad diferente a como lo hacen sus contrapartes normales. Esta diferencia puede ser de diversos tipos: la expresión puede ser más tenue o más intensa, pero también puede ser heterogénea —es decir, que vaya desde muy tenue hasta muy intensa— o bimodal —algunas células lo expresan en forma tenue y

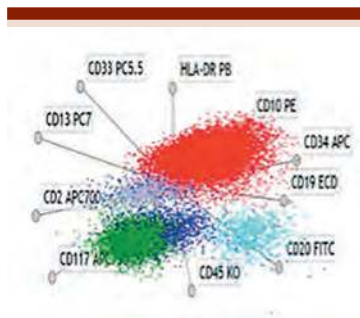


Figura 1. Las células neoplásicas (rojo) corresponden a linfocitos B muy inmaduros que coexpresan los antígenos CD34, CD10, CD19 y HLA-DR. Representan más de 60% de todas las células de esta muestra de médula ósea cuando en condiciones normales no exceden 1% del total de las células hematopoyéticas.

otras lo hacen en forma moderada o intensa. Para poder identificar estas aberraciones, es menester conocer cuáles son los patrones normales de expresión de todos los antígenos que se usan en el análisis del inmunofenotipo de las neoplasias oncohematológicas. Obvia decir que mientras más antígenos se estudien en cada caso, mayores probabilidades hay de encontrar alguno o algunos que se expresen de modo aberrante.

Aberraciones cronológicas

Se conocen con bastante certeza los cambios de la expresión de distintos antígenos en el proceso de maduración de los distintos linajes celulares de la hematopoyesis, lo que ha hecho posible "trazar" las vías de maduración inmunofenotípica de las células linfoides B y T y de las diversas líneas de maduración de la serie mieloide. En las células neoplásicas es frecuente encontrar asincronía en la expresión de estos antígenos que se refleja como la coexpresión de antígenos que son propios de etapas muy tempranas de la maduración, con aquella de

otros que normalmente se expresan en formas tardías o terminales de la maduración. La **Figura 2** es un ejemplo de esta condición.

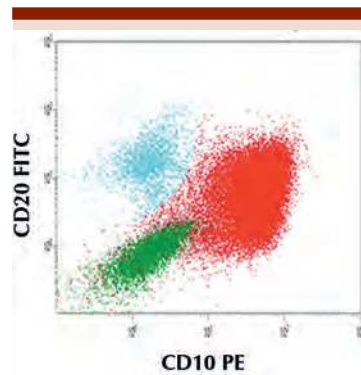


Figura 2. Las células neoplásicas (rojo) coexpresan los antígenos CD10 y CD20, cuando en condiciones normales, las células tempranas expresan sólo el antígeno CD10 y no el CD20. En el proceso de maduración de este linaje, el antígeno CD10 se va perdiendo progresivamente y de manera concomitante va aumentando la expresión de CD20. En este caso, sí va en aumento la expresión de CD20, pero no deja de expresarse CD10.

Infidelidad o promiscuidad de linaje

Estas anormalidades son prácticamente inequívocas del carácter maligno de una población celular, y se refiere a la coexpresión de antígenos de distintos linajes en la misma célula. En ocasiones, una población maligna de células mieloides puede expresar en forma aberrante un antígeno propio del linaje linfóide, o viceversa, pero en otras más, una misma población celular puede expresar varios antígenos que le permiten cumplir con los criterios para clasificarse como de linaje mixto (**Figura 3**).

Anormalidades anatómicas

Se refiere al hallazgo anormal de un fenotipo celular propio de un tejido

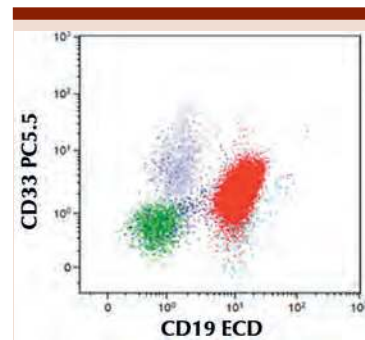


Figura 3. Las células neoplásicas (rojo) expresan simultáneamente al antígeno CD19 (propio de las células B) y en forma heterogénea el antígeno CD33 (característico de las células mieloides). Este ejemplo muestra la promiscuidad de linaje y la expresión heterogénea (de muy tenue a moderada) del antígeno CD33.

en otro en el que normalmente no se le encuentra. Un ejemplo muy representativo es la presencia de células B muy tempranas (CD34+/CD10+/CD19+/CD20-) en una muestra de líquido cefalorraquídeo, que refleja infiltración leucémica en el sistema nervioso central.

De ayuda en el momento del inicio de un caso de leucemia, es decir, cuando la masa de células tumorales es relativa o francamente abundante, la demostración de aneuploidías es altamente sugerente del carácter maligno de una población celular sospechosa. Si bien existen leucemias en las que no pueden demostrar aneuploidías por los métodos convencionales, su demostración es un dato altamente informativo (**Figura 4**).

Restaría sólo comentar que la citometría de flujo multiparamétrica incrementa en forma geométrica la posibilidad de demostrar las anormalidades fenotípicas antes descritas, principalmente las que sólo son visibles cuando una célula individual se define por múltiples características antigénicas. Es importante insistir en que cada nuevo

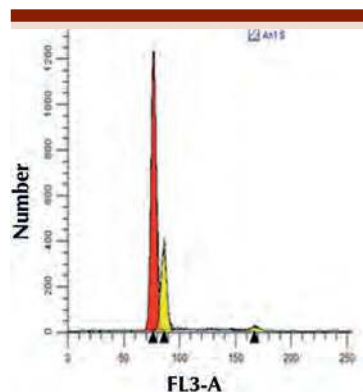


Figura 4. El histograma muestra el análisis del contenido de ADN nuclear de una muestra de médula ósea de un paciente con leucemia aguda de precursores B. Las células en color amarillo son elementos normales (diploides) del tejido hematopoyético, mientras que las células en rojo corresponden a los blastos (aneuploides) que contienen menos ADN total que las células normales. El hallazgo de aneuploidías, junto con aberraciones inmunofenotípicas, es indicativo del carácter neoplásico del padecimiento.

parámetro que se agrega en un análisis por citometría de flujo genera una nueva dimensión. No debe interpretarse la adición de un parámetro como sólo un color más, sino como un nuevo eje en el que se pueden proyectar las células individuales en relación con la expresión de múltiples características fenotípicas (**Figura 5**).

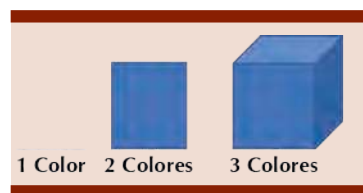


Figura 5.

BIBLIOGRAFÍA

1. Orfao A, Schmitz G, Brando B, Ruiz-Arguelles A, Basso G, Braylan, Rothe

G, Lacombe F, Lanza F, Papa S, Lucio P, San Miguel JF. Clinically Useful Information Provided by The Flow Cytometric Immunophenotyping of Hematological Malignancies: Current Status and Future Directions. *Clinical Chemistry* 1999;45:1708-1717.

2. Ruiz-Arguelles A, Duque Re. Orfao A. Report On The First Latin American Consensus Conference for Flow Cytometric Immunophenotyping Of Leukemia. *Cytometry* 1998;34:39-42.
3. Ruiz-Argüelles A, Rivadeneyra-Espinoza L, Duque RE, Orfao A. Report on the second Latin American consensus conference for flow cytometric immunophenotyping of hematological malignancies. *Cytometry* 2005;70:39-44.
4. Reyes-Núñez V, Galo-Hooker E., Pérez-Romano B, Duque R., Ruiz-Argüelles A., Garces-Eisele J. Simultaneous Use of Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification Assay and Flow Cytometric DNA Ploidy Analysis in Patients with Acute Leukemia. *Cytometry Part B Clinical Cytometry* 44-1, Mar-2017.
5. Arriaga-Pizano L, Ramírez-Ramírez D, Prieto-Chávez J, Pelayo R, Ruiz-Argüelles A. Reporte de la Primera Reunión nacional de Consenso para la Inmunofenotipificación de Leucemias Agudas. *Gac Méd Méx* 2019;155:20-29.

Interpretación clínica de los estudios de citometría de flujo para tipificar hemopatías malignas

Lourdes Andrea Arriaga-Pizano

Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Coordinación de Investigación en Salud, Instituto Mexicano del Seguro Social.

La citometría de flujo es una técnica que permite analizar en poco tiempo gran número de células que se encuentren en suspensión, ya sea porque esa es la naturaleza de la muestra a analizar (sangre

periférica, médula ósea o células en fluidos corporales como líquido cefalorraquídeo, sinovial u orina) o porque se generó una suspensión celular al disgregar tejidos sólidos como ganglios, bazo, hígado, epitelios, e incluso hueso. A diferencia de otras técnicas citómicas como microscopia, la citometría de flujo permite analizar de forma objetiva y a gran velocidad varios marcadores (de superficie o intracelulares) en miles a millones de células, para lo que se utilizan anticuerpos (Ab) contra los marcadores celulares. Estos Ab deben estar fluorocromados para poder ser detectados por los citómetros de flujo.

Para la inmunofenotipificación en citometría de flujo se requiere que la muestra sea correctamente colectada y procesada para que los anticuerpos reconozcan a sus antígenos en las células a analizar (fase preanalítica), que se capture el suficiente número de células en un citómetro calibrado (fase de adquisición) y que se interprete correctamente la información colectada por el equipo y se genere el reporte (fase de análisis o interpretación).

Los marcadores que más frecuentemente se utilizan para la inmunofenotipificación de leucocitos incluyen varios "clusters de diferenciación" o CD como: CD45, CD3, CD4, CD8, CD19, CD14, CD16, CD20, CD34, y CD38, entre otros. También se puede agregar la identificación de enzimas (sin identificación por la nomenclatura CD), como mieloperoxidasa (MPO) o granzima. Para determinar cuál es el patrón de expresión diferencial y coexpresión de estos marcadores en cada célula de las miles que se analizan, se requiere generar paneles de anticuerpos. Estos anticuerpos deberán estar conjugados a diferentes fluorocromos a fin de identificarlos individualmente. Entre más anticuerpos incluya el

panel, más completo e informativo será el inmunofenotipo.

El número, tipo y combinación de fluorocromos que se pueden analizar en un citómetro determinado depende de su configuración óptica (número de detectores y filtros ópticos). Por ello, el diseño del panel de anticuerpos para el inmunofenotipo debe estar basado entonces en: 1) los marcadores que son informativos para el médico para la toma de decisiones, y 2) el tipo de citómetro en que se analizarán las muestras. Y dado que citómetros de diferentes marcas y modelos pueden tener la misma mesa óptica, no existen paneles exclusivos para el equipo. Básicamente, la forma en que es factible el análisis multifluorescencia (o multiparamétrico), incluso en muestras con composición celular heterogénea, esta basado en que: 1) en los citómetros la células en suspensión se orientan individualmente (en “unifila”) hacia el punto de “interrogación”, que es donde incide la o las fuentes luminosas sobre estas células; 2) los citómetros tienen uno o varios LASER, lo que multiplica la variedad de fluorescencias que se pueden excitar

con el mismo equipo; 3) poseen detectores acoplados a diversos filtros que permiten registrar individualmente diferentes longitudes de onda de luz visible (fluorescencias); y 4) por cada célula o evento cada detector registra al menos un valor numérico correspondiente al pulso eléctrico derivado de los fotones captados. El sistema electrónico de los citómetros con estos valores (que será al menos uno por detector para cada evento analizado) genera una matriz numérica que corresponde al archivo FCS (por *flow cytometry file standard*) o LSM (por *list mode data*). Estos valores registrados en los archivos es lo que se proyecta en las gráficas de las plantillas de análisis. Los gráficos pueden mostrar un solo parámetro (histogramas), dos parámetros (bidimensionales) o más parámetros (multidimensional). En los algoritmos clásicos de análisis las plantillas de análisis se hacen de forma supervisada, lo que quiere decir que la persona responsable del análisis proyecta los datos en gráficos en los que va seleccionando poblaciones (o *gating*) con jerarquías que suelen estar basadas en la biología de los leucocitos.

En los citómetros suelen existir, además de los detectores a fluorescencia, otros dos detectores que registran la misma luz del llamado LASER principal (que suele ser de 488 nm): el detector de dispersión frontal (FS o FSC por *frontal scatter detector*) que es difractada (hacia el frente) por la célula de acuerdo con su tamaño, y un detector de dispersión lateral (SSC por *side scatter detector*) que registra la luz difractada y refractada lateralmente de acuerdo con la granularidad de las células (**Figura 1A**). Con esto se pueden generar gráficos de tamaño contra granularidad (FS vs SSC, **Figura 1B**) que permite la identificación de poblaciones mayoritarias de leucocitos (linfocitos, monocitos y granulocitos).

Los citómetros digitales pueden registrar dos señales del detector de tamaño (la integral y de pico máximo o FSC-A y FSC-H) que permiten asegurarse que cada evento incluido en el análisis corresponde a una sola célula y no a dos, tres o más que están agregadas (**Figura 2**, panel inicial). Este último aspecto es de suma importancia para la

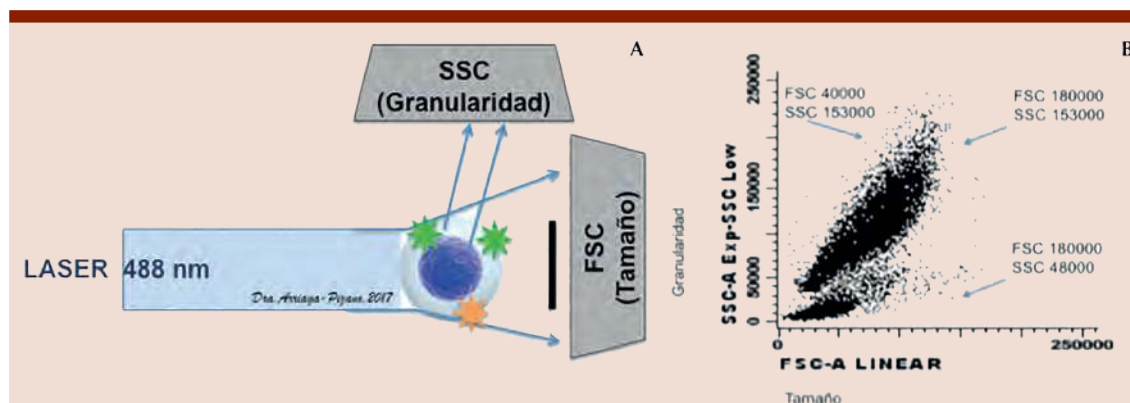


Figura 1. Patrones de tamaño y complejidad relativa. **A.** En la zona de interrogación de los citómetros en la célula incide un láser cuya difracción y refracción es captada por los detectores FSC y SSC. **B.** Con la información colectada por los detectores anteriores se genera una gráfica bidimensional en un sistema de coordenada ubica a los eventos (células) dentro de esta gráfica de puntos.

interpretación de la información registrada por los citómetros, porque en la inmunofenotipificación se analiza la coexpresión (o falta de) de marcadores que permiten la identificación y caracterización de células, tal como se muestra, por ejemplo, en el resto del algoritmo de análisis que se muestra en la **Figura 2**, donde a partir de la selección de células no agregadas, poco granulares y relativamente pequeñas, que corresponden a linfocitos, se pueden seleccionar a las células T CD3+ y de allí subseleccionar las CD4+ o CD8+. Así se puede identificar a los linfocitos T cooperadores (CD3+CD4+) de los linfocitos T citotóxicos (CD3+CD8+). **Figura 2** Además de la generación de los gráficos mostrados, la matriz numérica del archivo de citometría permite que los programas apliquen diferentes pruebas estadísticas para obtener los porcentajes, medias, medianas o coeficientes de variación de las diferentes poblaciones identificadas y caracterizadas de acuerdo con su tamaño, complejidad y expresión de marcadores. Las proporciones de las diferentes poblaciones se convertirán en número absolutos (cél/volumen) mediante el conteo de células en la fase preanalítica o al incluir perlas

incluidas en los tubos para captura. Finalmente, si tomamos en cuenta que cada detector corresponde a un parámetro, un citómetro para seis fluorescencias evalúa ocho parámetros (FS, SSC y las 6 fluorescencias) y un analizador de diez fluorescencias (doce parámetros) evalúa al menos diez marcadores de las diferentes subpoblaciones preseleccionadas por tamaño y complejidad relativa. Si tomamos en cuenta que para un análisis estándar se requiere adquirir al menos diez mil eventos correspondientes a las células de interés, se entiende que los laboratorios generen o soliciten a las compañías que fabrican los citómetros plantillas estandarizadas que agilicen mediante la semiautomatización del informe a entregar. Actualmente existen programas que utilizan análisis no supervisado y que están asociados con bases de referencia. La limitación de estos sistemas que se ofertan como análisis automatizados es que requieren que se apliquen paneles exactamente iguales a los que generaron la base de datos de referencia, con calibración de equipos acordes, encareciendo el costo de las pruebas al tener que adquirir los reactivos en paquete (*kits*), así como el programa y el

acceso a las bases de datos. Sin embargo, estas estrategias de análisis no supervisado o sus programas no están cerrados a utilizarse con los paquetes de reactivos, por lo que pueden ser aprovechados por diferentes laboratorios para expandir el análisis de poblaciones y subpoblaciones leucocitarias con sus recursos materiales y humanos que, en cualquier caso, requieren estar altamente calificados para generar informes de calidad y útiles, o sea, informativos y confiables.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ruiz-Argüelles A, Pérez-Romano B. Immunophenotypic analysis of peripheral blood lymphocytes. Curr Protoc Cytom 2001 May;Chapter 6:Unit 6.5. doi: 10.1002/0471142956.cy0605s11
2. Orfao A, Ruiz-Argüelles A, et al. Flow cytometry: its applications in hematology. Haematologica 1995 Jan-Feb;80(1):69-81.
3. Cossarizza A, Chang HD et al. Guidelines for the use of flow cytometry and cell sorting in immunological studies. Eur J Immunol 2017 Oct;47(10):1584-1797. doi: 10.1002/eji.201646632
4. Fišer K, Sieger T, et al. Detection and monitoring of normal and leukemic

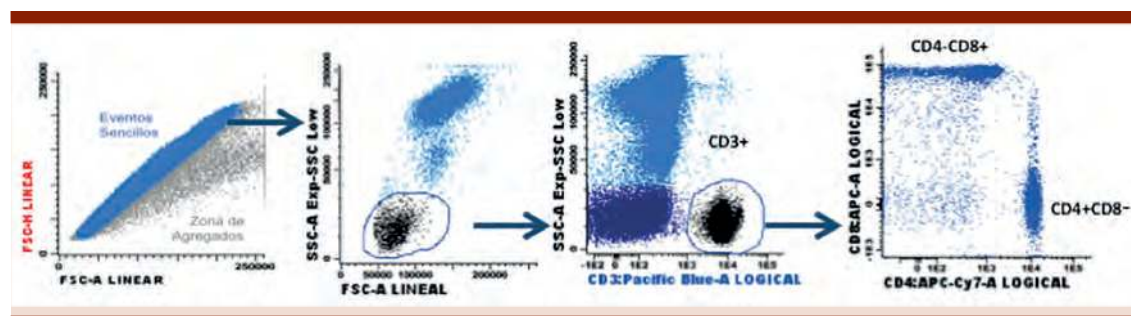


Figura 2. Estrategia de análisis (*gating*) supervisado para identificación de linfocitos T cooperadores y citotóxicos. A partir de una gráfica que permite seleccionar eventos sencillos, se seleccionan las células que de acuerdo con tamaño y granularidad corresponden a linfocitos y de estos los que sean CD3+, o sea linfocitos T. Esta subpoblación es la que se proyecta a la gráfica de puntos de CD4 vs CD8 y ya se pueden identificar los linfocitos cooperadores CD3+CD4+CD8- y citotóxicos, o sea CD3+CD4-CD8+.

cell populations with hierarchical clustering of flow cytometry data. *Cytometry A* 2012 Jan;81(1):25-34. doi: 10.1002/cyto.a.21148

5. Bernas T, Grégori G, Asem EK, Robinson JP. Integrating cytomics and proteomics. *Mol Cell Proteomics* 2006 Jan;5(1):2-13. Epub 2005 Oct 28.

Interpretación clínica de los estudios de citometría de flujo para tipificar hemopatías malignas. Análisis de la hematopoyesis a través del inmunofenotipo

Rosana Pelayo-Camacho,¹ Juan Carlos Balandrán²

¹ Centro de Investigación Biomédica de Oriente, IMSS.

² Laboratorios Juárez de Oaxaca.

Introducción

La citometría de flujo multiparamétrica, una de las herramientas tecnológicas más vanguardistas y poderosas del siglo XX, ha revolucionado los paradigmas de la diferenciación celular y cambiado el curso de las enfermedades hematológicas a través de la inmunofenotipificación de alta precisión de los tejidos normales y malignos. La construcción de los mapas de diferenciación se ha beneficiado sustancialmente del uso de la citometría de flujo en la identificación cualitativa y funcional de poblaciones celulares en desarrollo. En el sistema hematopoyético, características celulares como tamaño y complejidad, aprovechando las propiedades de dispersión de la luz y emisión de fluorescencia cuando las células en suspensión son analizadas individualmente, permiten preclasificar a las poblaciones celulares, en tanto que la expresión de marcadores específicos de linajes sanguíneos, conocer la vía de diferenciación que utilizan y su grado de afectación. La ulterior evaluación citométrica de potenciales de proliferación, pro-

piedades de plasticidad y sistemas de comunicación intercelular pone en contexto la complejidad del sistema hematopoyético.

Como será discutido en el siguiente capítulo, además del paso cuántico en el conocimiento preciso de la hematopoyesis normal y maligna, esta tecnología ha impactado positivamente en la prevención de recaídas por leucemias, linfomas y mieloma múltiple, a través de la detección de enfermedad mínima residual. Además, el área contribuye de forma creciente en la biología del trasplante y la medicina regenerativa, por su utilidad en el aislamiento y la manipulación de células troncales y progenitoras hematopoyéticas, e incide en el manejo clínico de padecimientos inflamatorios, metabólicos y degenerativos.

Hematopoyesis: el árbol de la sangre

A lo largo de la vida, el abastecimiento continuo de todos los linajes sanguíneos encargados de funciones como el transporte de oxígeno, reparación de tejidos y respuesta inmunitaria efectora, es resultado de la diferenciación de las células troncales hematopoyéticas (CTH), que constituyen la raíz y semilla del tejido y residen en la médula ósea en nichos especializados que abonan el proceso de hematopoyesis, finamente regulado genética, epigenética y microambientalmente. La alta tasa de recambio celular y gradual diferenciación de la población seminal y autorrenovable de CTH están regidas por una estructura biológicamente jerárquica y multinivel en árbol, generadora de progenitores multipotentes, precursores oligo-unipotenciales y células terminalmente diferenciadas, con funciones especializadas y maduras, dentro de las dos ramas dominantes de diferenciación: la mieloide y la linfóide (**Figura 1**).

El linaje linfóide incluye a células B, células T, células asesinas naturales NK, algunas subpoblaciones de células dendríticas y células linfoides innatas, mientras que el linaje mieloide está conformado de eritrocitos, megacariocitos, monocitos, macrófagos, granulocitos (neutrófilos, basófilos y eosinófilos), células cebadas y otras categorías de células dendríticas.

Aunque el modelo de la hematopoyesis ha sufrido modificaciones constantemente, el mapa de diferenciación más actualizado ha sido construido con base en la caracterización de subpoblaciones celulares de acuerdo con la expresión diferencial de antígenos de superficie y su correlación con los potenciales de diferenciación *in vivo*.

El compartimiento de las células primitivas en la médula ósea constituye de 0.5 a 5% de las células nucleadas y el antígeno CD34 es su principal marcador, aunque la principal actividad de reconstitución hematopoyética a largo plazo reside tan sólo en 1-10% de las células CD34+ que no expresan marcadores de linaje (linaje-). En ellas, la expresión de CD90, CD117, CD133 y VEGFR2 las distingue de estadios más avanzados en la diferenciación. En el compartimiento de progenitores multilinfoides, se ha perdido la capacidad de autorrenovación y las células expresan CD45RA, en tanto que los progenitores multipotentes, CD38 (**Figura 2**, panel superior). Progresivamente, la ruta continúa hacia los precursores oligopotenciales que muestran marcadores y afectación de linaje, son distinguibles morfológicamente, muy proliferativas y representan 90% de las células de la médula ósea. El último compartimiento corresponde a las células en vías de maduración y maduras, que son fenotípicamente distintas entre sí.

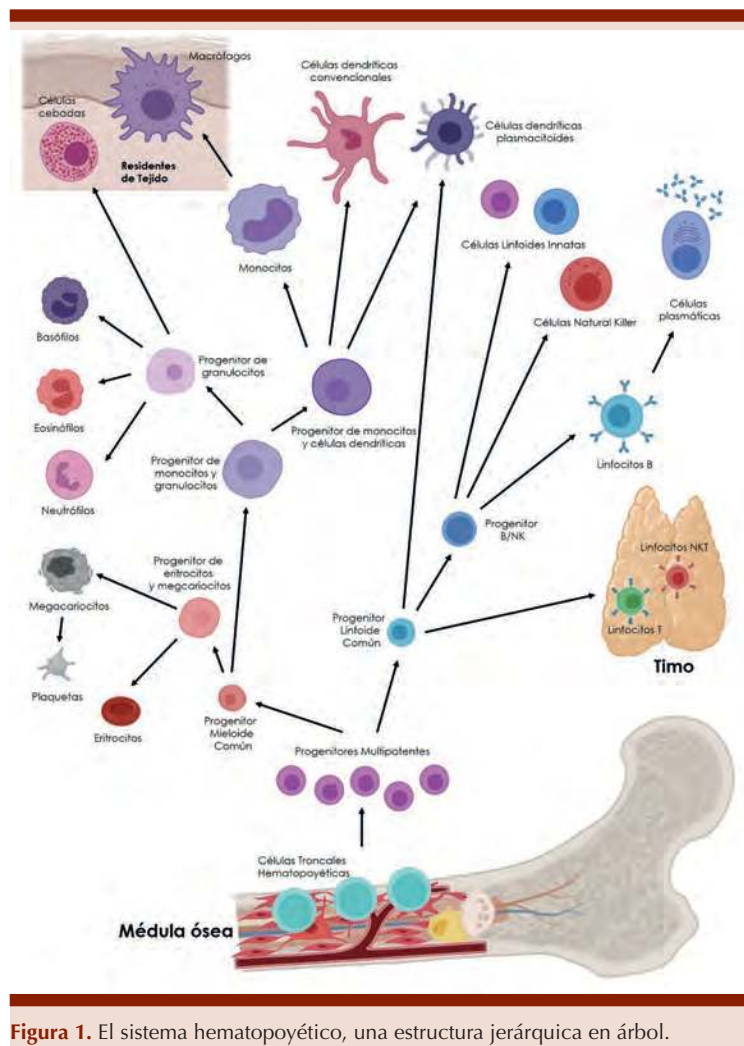


Figura 1. El sistema hematopoyético, una estructura jerárquica en árbol.

Inmunofenotipificación hematopoyética

Claramente, la inmunofenotipificación por citometría de flujo permite la identificación de los compartimientos tempranos, así como de los subtipos maduros, de acuerdo con la expresión de marcadores como CD3, CD4, CD8, CD11c, CD14, CD16, CD19, CD20, y CD56, entre otros.

A partir de aspirados de médula ósea se aplican paneles de anticuerpos que permiten el análisis multiparamétrico (**Figura 2**).

Además, la citometría de flujo multiparamétrica permite analizar factores intrínsecos que regulan la diferenciación hematopoyética, como son las redes de transcripción y el ciclo celular.

Si se incluyen anticuerpos que identifiquen a las formas activas de los factores de transcripción Ikaros, PU.1, Bmi1, SCL y Runx2, se puede investigar el estado de las células hematopoyéticas en el contexto de programas de diferenciación. Notablemente, la tinción de diferentes ciclinas y cinasas dependientes de

ciclinas (CDK), así como el uso de moléculas que se intercalan con el ADN, como el yoduro de propidio o el 7AAD, contribuye a reportar la fase del ciclo celular en la que se encuentran las células hematopoyéticas.

Una vez identificadas las células en estudio, pueden purificarse de la suspensión original utilizando citómetros que tienen la capacidad robótica para seleccionarlas y recuperarlas (FACS) y en el caso de permanecer viables, ser utilizadas para investigaciones en cultivo. El principal problema del análisis multiparamétrico es que los espectros luminosos de una molécula fluorescente pueden sobrelapar con el espectro de otra, limitando el número de detectores y de parámetros por analizar. Una propuesta innovadora es la citometría de masas, que estudia las propiedades fenotípicas y funcionales de poblaciones heterogéneas y está fundamentada en herramientas de citometría de flujo y citometría de imagen de alto contenido. Esta tecnología utiliza anticuerpos acoplados a metales pesados en lugar de fluorocromos, distinguibles de acuerdo con su masa atómica y ofrece grandes ventajas, como la capacidad de analizar hasta 34 parámetros simultáneamente para la clasificación celular de alta precisión, aunque las células no pueden ser recuperadas. La combinación de citometría de flujo y citometría de masas es la base de la CITÓMICA, que a través del análisis de grandes volúmenes de datos por técnicas automatizadas de alto rendimiento y velocidad, en combinación con herramientas bioinformáticas, nos acerca a la identidad de poblaciones especiales y a comportamientos colectivos para beneficio de la medicina moderna.

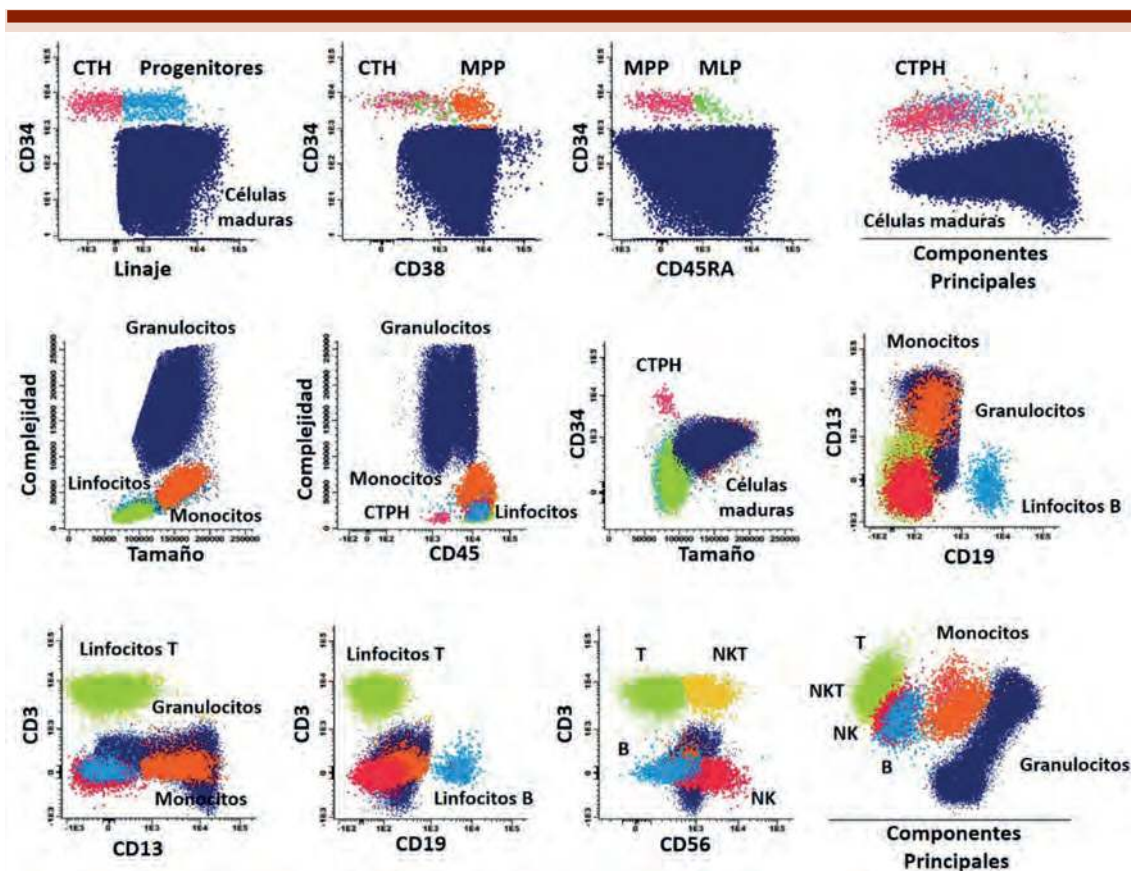


Figura 2. Fenotipos de compartimientos hematopoyéticos por citometría de flujo. Célula troncal hematopoyética (CTH: Lin⁺CD34⁺CD38⁺CD90⁺CD45RA⁺CD133⁺); progenitor multipotencial (MPP: Lin⁺CD34⁺CD38⁺CD90⁺CD45RA⁺); progenitor multitilinoide (MLP: Lin⁺CD34⁺CD38⁺CD90⁺CD45RA⁺Flt3⁺CD7⁺CD10⁺); linfocitos T: CD3⁺CD13⁺; linfocitos B: CD19⁺CD3⁺; células NK: CD3⁺CD56⁺; células NKT: CD3⁺CD56⁺; monocitos/granulocitos: CD13⁺. Lin- se refiere a que las células son linaje negativas, o sea, que no expresan marcadores propios de las células maduras, como los de células B (CD19 o CD20), células T (CD3), NK (CD16 y CD56), o monocitos (CD14 o CD11b).

BIBLIOGRAFÍA

1. Pelayo R, Vadillo E. El sistema hematopoyético a partir de células troncales. En: Células Troncales y Medicina Regenerativa. Ed. Pelayo, Santa-Olalla, Velasco. PUIS UNAM 2011.
2. Balandrán JC, Enciso J, Pelayo R. El Sistema Hematopoyético como paradigma de la diferenciación celular. En: Células Troncales, Biología y Aplicaciones en Biomedicina. Chávez González, Chimal-Monroy, Flores-Figueroa y Lamas-Gregori, Coord. Ed. Grañén-Porrúa. 2016.
3. Pelayo R, Balandrán JC, Ruiz-Argüelles A. Ontogenia de la Inmunidad. En: La Medicina es Así. Unidad VI – Inmunología. Academia Nacional de Medicina 2019.

Trombosis y síndrome metabólico

Antonio González-Chávez

Servicio de Medicina Interna, Hospital General de México.

Existen varias teorías que tratan de explicar por qué en el síndrome metabólico existe propensión a la trombosis.

Una de ellas es la resistencia a la insulina como principal efector, otras basadas en el adipocito como órgano endocrino disfuncional y las más recientes que colocan a la inflamación sistémica de bajo grado como uno de los actores principales, que la ubican como generadora aun de la propia resistencia a la insulina y de todas las alteraciones metabólicas, celulares, moleculares como la dislipidemia aterogénica, elevación de la presión arterial, elevación de la glucosa, la obesidad abdominal, que se observan en el

síndrome metabólico y que favorecen por diversas vías la activación de la cascada de coagulación y la disminución de la actividad fibrinolítica que predispone hacia un estado protrombótico.^{1,2}

En los pacientes con obesidad visceral se ha demostrado que los adipocitos secretan sustancias potencialmente trombogénicas, como la leptina, la resistina, el inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1), el factor tisular (FT), angiotensina II, ácidos grasos libres no esterificados, el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), y la interleucina 6 (IL-6).^{3,4}

En diversos estudios se han encontrado concentraciones elevadas de PAI-1 con disminución de la actividad fibrinolítica, incremento en las concentraciones de fibrinógeno, de la actividad plaquetaria, de la viscosidad plasmática y aumento de los factores de coagulación VII y VIII en pacientes con resistencia a la insulina y síndrome metabólico, fundamentalmente si cursan con obesidad y diabetes tipo 2.

Se ha precisado que el incremento de las concentraciones de PAI-1 afectan la normal eliminación de la fibrina y consecuentemente favorecen la trombosis. Otros diversos factores que incrementan aún más la expresión del PAI-1 y su síntesis en el tejido adiposo y las concentraciones elevadas de ácidos grasos libres, triglicéridos, insulina, angiotensina II, proteína C reactiva (PCR), TNF- α y disminución de la adiponectina.

Al disminuir la adiponectina ésta no se acumula en la pared de los vasos lesionados para ejercer sus acciones antiaterogénicas y antiinflamatorias, lo que coadyuva a la protrombosis.⁵

La proteína C reactiva puede contribuir a favorecer la trombosis por diversas vías, específicamente incrementa la expresión endotelial de las moléculas de adhesión, estimula

a los macrófagos para producir IL-6 y TNF- α y la producción de FT por los monocitos.

La IL-6 promueve la trombosis de manera indirecta incrementando la cuenta plaquetaria, la agregación plaquetaria, la síntesis hepática de fibrinógeno y PCR, así como mayor expresión de las moléculas de adhesión endoteliales y decremento en la secreción de adiponectina.

El TNF- α disminuye la expresión de adiponectina, incrementa la expresión de leptina y de las moléculas de adhesión endoteliales.

Las alteraciones metabólicas presentes en el síndrome metabólico, como la resistencia a la insulina favorece aún con mayor dimensión la propensión a un estado protrombótico ya que favorece la activación endotelial, la hiperactividad de las plaquetas, la hipofibrinólisis y la hiperinsulinemia incrementa las concentraciones de PAI-1, del factor VII, fibrinógeno y FT.

Con la hiperlipidemia hay concentraciones elevadas de protrombina y de los factores de coagulación dependiente de vitamina K.

La lipoproteína (a) se eleva en los pacientes con obesidad particularmente cuando está asociada con hiperglucemia. La lipoproteína (a) tiene propiedades semejantes a la LDL y estructuralmente es similar al plasminógeno y puede inhibir la unión del plasminógeno verdadero a la célula endotelial e interfiere con la generación de plasmina.

Se ha descrito que la homocisteína en presencia de hiperinsulinemia y de resistencia a la insulina es un factor de riesgo del estado de trombosis, porque altera el mecanismo fibrinolítico del endotelio, alterando la generación de antitrombina III y del factor activador del plasminógeno, y favoreciendo, por otra parte, el incremento del factor V, disminución de las concentraciones de proteína C, así como inhibición de la trombomodulina.

La activación de la cascada de la coagulación, por medio de la glucosilación avanzada no enzimática, que se presenta ante la hiperglucemia crónica es iniciada por la generación de productos finales de la glucosilación (AGE), que condicionan disfunción endotelial. Ante la hiperglucemia también se encuentra incrementada la expresión del factor tisular, un potente procoagulante, combinada con la disminución del factor VII, antitrombina III y proteína C.

Por otra parte, las plaquetas pueden modular la función vascular y participar activamente en la formación de trombos. Las anomalías en la función plaquetaria pueden exacerbar la trombosis. La concentración elevada de glucosa plaquetaria, así como en las células endoteliales llevan a la activación de la proteína cinasa C, disminución de la producción del óxido nítrico derivado de plaquetas y el incremento en la formación de radicales libres.

En la diabetes las plaquetas también muestran alteración en la homeostasis del calcio que influye negativamente en la función plaquetaria. El calcio intraplaquetario regula la secreción y agregación del tromboxano.

También la hiperglucemia favorece el incremento en la expresión de la glucoproteína Ib(Gplb), que ligado al factor de Von Willebrand regula la interacción plaqueta-fibrina.

Todos estos cambios por la hiperglucemia pueden dar como resultado la disminución de la producción endotelial de antiagregantes como el óxido nítrico y la prostaciclina e incremento en la producción de fibrinógeno y factores de activación plaquetaria y disminución de los inhibidores plaquetarios.^{4,6,7}

En suma, en los pacientes con síndrome metabólico, las concentraciones altas de FT favorecen la activación de la cascada de coagu-

lación encontrándose, por tanto, en estos pacientes concentraciones elevadas del factor VII, VIII, de la protrombina y de fibrinógeno, con actividad fibrinolítica disminuida debido a que el plasminógeno es inhibido por las concentraciones elevadas de PAI-1 y de la lipoproteína (a), todas circunstancias que favorecen un estado con tendencia a la trombosis, aspecto fisiopatológico que explica el mayor desarrollo de eventos cardiovasculares y de trombosis venosa que afectan a los pacientes con síndrome metabólico.⁸

REFERENCIAS

1. Gonzalez-Chavez A, Elizondo-Argueta S, Gutierrez-Reyes G, Leon Pedroza JI. Pathophysiological implications between chronic inflammation and the development of diabetes and obesity. *Cir Cir* 2011;79:190-197.
2. Leon-Pedroza JI, Gonzalez-Tapia LA, Del Olmo-Gil E, Castellanos-Rodríguez D, Escobedo G, Gonzalez-Chávez A. Low-grade systemic inflammation and the development of metabolic diseases: From the molecular evidence to the clinical practice. *Cir y Cir* 2015;83(6):543-551.
3. Suarez-Alvarez K, Solis-Lozano L, Leon-Cabrera S, et al. Serum IL-2 is increased in Mexican obese subjects and associated with low grade inflammation and obesity-related parameters. *Mediators of Inflammation* Volumen 2013, article ID 967067, 8 pages, DOI 10.1155/2013/967067
4. Darvall KAL, Sam RC, Silverman SH, et al. Obesity and thrombosis. *Eur J Vas Endovas Surg* 2007;33:223-233.
5. Mrozinska S, Cieslik J, Broniatowska E. Elevated leptina and decreased adiponectin independently predict the post-thrombotic syndrome in obese and non obese patients. *Scientific Reports* (2018) 8:6938/ DOI:10.1038/s41598-018-25135-y
6. González Chávez A, et al. Mecanismos inmunopatológicos en el síndrome metabólico. *Síndrome metabólico y enfermedad cardiovascular*. Editorial Intersistemas 2012, Capítulo 6, pág. 53.
7. Meigs J, Mittleman M, Nathan D, Tofler G, et al. Hyperinsulinemia, hyperglucemia, and impaired haemostasis: The Framingham Offspring Study. *JAMA* 2000;283:221-228.
8. Gonzalez-Chávez A, Chávez-Fernández JA, Elizondo-Argueta S, et al; Metabolic Syndrome and Cardiovascular Disease: A Health Challenge in México. *Arch Med Res* 2018. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2018.10.003>.

Trombocitopenia inmunitaria primaria (TIP) ¿Cuáles son las opciones actuales en tratamiento?

Humberto Baldemar Castellanos-Sinco

Médico adscrito, Servicio de Hematología, Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga, Ciudad de México.

La trombocitopenia inmunitaria primaria (TIP) se caracteriza por la destrucción de las plaquetas mediada por mecanismos inmunitarios; así como cierta supresión de la producción plaquetaria.¹ La incidencia anual de la TIP varía entre 1.9 a 6.4 casos por cada 100,000 niños y de 1.6 a 3.9 casos por cada 100,000 adultos, pero sólo 30 a 50% de los enfermos requiere tratamiento.² Al momento del diagnóstico, el tratamiento debe dirigirse al control inmediato de la hemorragia que ponga en peligro la vida o a reducir las manifestaciones hemorrágicas en mucosas (o a ambos). Afortunadamente la hemorragia grave o que pone en peligro la vida es un evento poco frecuente, presentándose hemorragia mayor en alrededor de 9.6% de los casos en adultos y en 20.2% de los niños. Es importante considerar que no hay correlación directa entre la magnitud de la trombocitopenia y la existencia de manifestaciones hemorrágicas,

especialmente con cuentas plaquetarias bajas. Por consiguiente, la hemorragia en TIP es heterogénea, impredecible y compuesta de diferentes factores de riesgo.^{3,4} Debido a lo anterior no existe un modelo de tratamiento validado con base en la estratificación de riesgo basado en evidencia.⁵ A lo largo de las últimas décadas han destacado diferentes guías diagnóstico-terapéuticas, entre las que se encuentran: la de la Sociedad Americana de Hematología (ASH) de 1996 (se creó con un abordaje consenso, resultado en una opinión de expertos), la actualización de dichas guías de 2011 (desarrolladas aplicando la metodología GRADE) y la más reciente actualización de 2018 (usando evidencia comprensiva al marco de referencia y elaboradas por un panel que favoreciera mayoritariamente a los miembros sin conflictos de interés).⁶ Otras guías relevantes son las británicas de 2003, las de Grupo Internacional de Trabajo (*International Working Group –IWG–*) de 2010 y otras como la española, las del grupo alemán, las suecas y las noruegas.⁷ El abordaje de este tema se hará dirigido al tratamiento en adultos, de primera y segunda línea.

Primera línea de tratamiento

El principal objetivo terapéutico consiste en buscar una cuenta plaquetaria suficientemente segura para prevenir la hemorragia mayor, evitando al máximo efectos tóxicos secundarios.⁸ La mayor parte de las guías sugieren que el tratamiento debe considerarse con cuentas plaquetarias menores de $30 \times 10^9/L$, con manifestaciones hemorrágicas o ambas situaciones.⁹⁻¹³ El tratamiento está dirigido hacia el incremento rápido de la cuenta de plaquetas para prevenir o detener hemorragias y lograr buena calidad de vida. La guía ASH 2011 sugiere tratar a los pacientes de diagnóstico

reciente con cuenta plaquetaria $< 30 \times 10^9/L$ (grado 2C),¹³ contrastando con la IWG donde se documenta que el tratamiento se indica en ausencia de hemorragia con recuentos superiores a $50 \times 10^9/L$.¹⁰ Las opciones farmacológicas que incluye el tratamiento de primera línea incluyen: 1) esteroides orales o endovenosos, 2) inmunoglobulina IV o 3) globulina anti D.^{5,7} La inmunoglobulina IV (a dosis de 1 g/kg en un día, que puede repetirse si es necesario) y la globulina anti D tienen como beneficio el incremento más rápido de la cuenta plaquetaria comparadas contra los esteroides, con efectos secundarios transitorios (pero habitualmente más graves); sin embargo, requieren infusión IV y la respuesta que ofrecen es transitoria, por lo anterior el tratamiento de elección resultan ser los esteroides.^{5,7}

La guía ASH sugiere además la combinación de inmunoglobulina IV con esteroides con la finalidad de obtener un incremento aún más rápido de la cuenta plaquetaria (grado 2B), incluso se sugiere a la inmunoglobulina IV o la inmunoglobulina anti D (en pacientes Rh positivos, con prueba de antiglobulina directa negativa y que no se hayan esplenectomizado, advirtiendo la FDA de casos de hemólisis intravascular fatal) en los casos en los que los corticosteroides estén contraindicados (grado 2C).⁵

Optimización de la administración de esteroides

La selección del tipo de esteroide para los enfermos de diagnóstico reciente ha generado una pregunta de alta prioridad para ser contestada, para lo que se ha dado la generación de estudios clínicos aleatorizados para comparar dexametasona y prednisona. La razón fundamental para la administración de la dexametasona es proveer mayor cantidad de esteroide equi-

valente durante un periodo breve de exposición. Basado en los datos disponibles, las tasas de remisión fueron más altas con dexametasona (RR 2.96, IC95% 1.03-2.96); sin embargo, el número de ciclos, la duración del tratamiento con dexametasona y la cuenta de plaquetas utilizada para establecer remisión no fue consistente entre estudios, lo que indujo baja confianza en los datos. Otra diferencia fue la respuesta inicial general al día 7 (1.31, IC95% 1.11-1.54). Cabe destacar que no hubo diferencias en la respuesta a un mes, en la respuesta continua o en la hemorragia mayor.⁵ En una revisión sistemática que reunió cuatro estudios que cumplieron los criterios de inclusión, la respuesta global (OR) (54 vs 43%, $p = 0.44$) y la respuesta completa (RC) (37 vs 21%, $p = 0.48$) no variaron significativamente entre dexametasona y prednisona. Una diferencia significativa fue la mayor respuesta global (OR) al día 14 en el brazo de dexametasona. Los eventos adversos ocurrieron en mayor cantidad en el brazo de prednisona. Por lo anterior, el balance entre efectos deseables e indeseables no aparenta favorecer aún a algún esteroide de los dos comentados. La elección clínica dependerá de las características individuales del enfermo, de los efectos colaterales, de las comorbilidades, de la necesidad de lograr una respuesta más rápida, del apego y de la decisión propia del enfermo.¹⁴ Es importante evitar la administración prolongada de esteroides y vigilar la glucemia, la presión arterial y la existencia o no de cambios mentales.

Intensificación del tratamiento de primera línea: a) rituximab

La depleción de linfocitos B periféricos inducida por el rituximab, así como el incremento en el número y función de células T reguladoras circulantes como elemento que es

útil para su administración como tratamiento en las enfermedades autoinmunitarias.¹⁵ El tratamiento con este fármaco resulta en una cuenta plaquetaria $> 50 \times 10^9/L$ en alrededor de 50 a 60% de los enfermos, con respuesta sostenida proyectada a 5 años de 25 a 30%. La corta duración del padecimiento de base es el único factor predictor de respuesta.^{16,17}

Desde las guías ASH 2011 dos estudios aleatorizados han investigado la adición de rituximab al tratamiento esteroideo de primera línea. Ambos estudios documentaron un incremento de la respuesta sostenida (cuenta plaquetaria $> 50 \times 10^9/L$ después de seis meses de tratamiento), en el primero se evidenciaron tasas de 35% con dexametasona como monoterapia y 60% con la terapia combinada ($p = 0.004$); sin embargo, hubo incremento de los eventos adversos grado 3 o 4 (10 vs 2%, $p = 0.82$).¹⁸ En el otro estudio se identificaron tasas similares de respuestas sostenidas (37 vs 58%, $p = 0.02$), con efecto persistente a los 12 meses (33 vs 53%, $p = 0.05$); además, la terapia combinada retrasó significativamente el tiempo del primer tratamiento de rescate en los respondedores ($p = 0.007$), pero también se reportaron más eventos adversos en el brazo de tratamiento combinado ($p = 0.04$).¹⁹

La dosis típica de rituximab se extrapola de su administración en los linfomas; sin embargo, se ha demostrado que una dosis fija más baja puede ser suficiente para inducir inmunosupresión e inducir respuesta en la cuenta plaquetaria. Al respecto, un estudio mexicano no aleatorizado indicó 100 mg de rituximab seminario por cuatro semanas en pacientes de primera línea; los enfermos recibieron uno o dos cursos de cuatro días de dexametasona 40 mg, así como el rituximab semanal. Hubo remisión completa

($\geq 100 \times 10^9/L$) de la cuenta plaquetaria en 76% de los enfermos a seis meses, con media de duración de respuesta de 17 meses.²⁰ Se requiere investigación adicional sobre dosis bajas de este fármaco que induzcan tasas de respuestas similares y con reducción de los efectos adversos. La adición de rituximab a los corticoesteroides no se considera actualmente un tratamiento estándar en primera línea; antes de poderse aceptar tienen que hacerse las siguientes consideraciones: 1) disminución del efecto de vacunas tras aplicar rituximab y el potencial impacto del compromiso sobre la vacunación si se requiere esplenectomía subsecuente, 2) alto costo relativo, 3) el perfil de efectos adversos y número de pacientes que deben ser expuesto a rituximab sin potenciales beneficios.⁵ Por lo anterior el tratamiento con esteroides como monoterapia continúa en este caso favorecido como tratamiento inicial de adultos con TIP de diagnóstico reciente.⁶

Intensificación del tratamiento de primera línea: b) agonistas del receptor de trombopoyetina (A-RTPO)

El reconocimiento de alteraciones en la producción plaquetaria en TIP ha inducido el desarrollo de nuevos tratamientos como los A-RTPO. Existen dos aprobados por FDA y EMA: eltrombopag y romiplostim para tratamiento de TIP crónica en adultos y niños; sin embargo su uso para enfermos de recién diagnóstico aún no es claro. No se consideran tratamientos inductores de remisión; sin embargo, una pequeña proporción de pacientes experimentan el incremento sostenido de la cuenta de plaquetas después de su administración e incluso entran en remisión.^{21,22} En un estudio mexicano de un solo brazo, abierto, pacientes previamente no tratados recibieron eltrombopag más dosis

altas de dexametasona. Se trataron doce adultos con dexametasona 40 mg IV diarios por cuatro días y eltrombopag 50 mg diarios por 28 días (desde el día +5).²³ Al día 34, un total de 83% obtuvieron respuesta completa (RC) y 17% respuesta (R). A los seis meses 50% de los enfermos se ubicaron en RC y 25% en R. A doce meses la respuesta general (RC + R) fue de 66%. No se presentaron eventos adversos. Estos datos aportan información preliminar sobre seguridad y eficacia en la adición de AR-TPO a los corticoesteroides. Se requieren estudios clínicos más grandes para confirmar tales hallazgos. Realmente su administración (en ausencia de datos a largo plazo y por el costo elevado) se limita actualmente a pacientes que no respondieron a la primera línea estándar de tratamiento. Un beneficio de estos agentes es que no conllevan riesgos de inmunosupresión, los efectos adversos más frecuentes son trombocitosis, trombosis, transaminitis con eltrombopag y cambios reticulínicos en médula ósea.⁵

Segunda línea de tratamiento

Hay tres elementos importantes en el tratamiento de segunda línea: esplenectomía, rituximab y AR-TPO. Es importante hacer mención que la mayor parte de otros tratamientos que incluyen: azatioprina, ciclofosfamida, ciclosporina, danazol, dapsona, mofetil micofenolato, vinblastina y vincristina carecen de estudios de eficacia-efectividad y seguridad. Sólo se han encontrado 22 estudios en las últimas cuatro décadas que competen al menos a alguna de estas ocho terapias; de hecho, la ciclofosfamida y la vincristina no se han estudiado de manera prospectiva, de forma intervencional y el resto de las seis terapias son soportadas por un estudio por cada una de ellas.²⁴ Hay algunos conceptos que emergen cuando se trata de evaluar las tres

opciones terapéuticas en segunda línea: 1) los dos AR-TPO se ha determinado que tienen eficacia equivalente; 2) la selección del tipo de tratamiento debe ser influida por la duración de la enfermedad; 3) la preferencia del enfermo juega un papel sustancial en la elección terapéutica, 4) el riesgo calculado de ciertos efectos adversos no puede ser determinado por la evidencia actual.⁶ Las consideraciones generales para esplenectomía incluyen el efecto deseable de altas tasas de remisión (77%, rango 58 a 91%) con un balance aceptable contra efectos indeseables como riesgo de por vida de procesos infecciosos, eventos tromboembólicos y complicaciones quirúrgicas (12.3%).²⁵ La tasa de mortalidad en promedio es de 2% (con rangos de 0 a 28.8%).²⁴ Cabe destacar que al momento no hay estudios aleatorizados controlados y prospectivos que valoren a la esplenectomía y un brazo de placebo o tratamiento estándar.²⁴ Por otro lado, en su extensa revisión Kojouri encontró que el único factor asociado con buenos resultados fue la edad < 50 años.²⁵ Es importante mencionar que la esplenectomía habitualmente se reserva a TIP de > 1 año de diagnóstico (crónicas), dada la cantidad de pacientes que puede presentar remisión farmacológica o espontánea en ese año. En cuanto al rituximab, este fármaco puede considerarse un potencial “ahorrador de esplenectomía”, con tasas de respuesta inicial de alrededor de 60%; sin embargo, la tasa de remisión a un año desciende hasta 24%. La relación de respuesta con rituximab que compara la respuesta plaquetaria global ($> 30 \times 10^9/L$) contra placebo fue de 0.86 a 1.09 (no se documentó un efecto significativo de la intervención).²⁴ Faltan estudios que evalúen los efectos a largo plazo de este fármaco. Al momento de aplicación se han reportado reacciones infusionales

graves, así como reactivación de hepatitis B, neutropenia y disminución de las concentraciones de inmunoglobulinas. En relación con los AR-TPO, de manera similar al rituximab se han propuesto como "ahorradores de esplenectomía". Uno de sus beneficios más importantes corresponde a su perfil de seguridad que evita la inmunosupresión; sin embargo, el impacto completo de estos medicamentos en la remisión del padecimiento no se encuentra aún bien entendido, aunque hay datos de que arrojan remisiones en 20 a 30% de los enfermos con la administración de estos fármacos por muchos meses; además de que existen datos limitados sobre su seguridad a muy largo plazo (> 10 años).^{21,22,26-31} La relación calculada de respuesta comparando la tasa de respuesta plaquetaria general (> 50 x 10⁹/L) contra placebo con eltrombopag varió de 1.4 a 13.24.²⁴ En los estudios de romiplostim la tasa de respuesta tuvo rangos de 1.5 a 34.28.²⁴ La relación de respuesta que compara la respuesta plaquetaria completa vs placebo con eltrombopag fue de 4.32 a 6.6, y con romiplostim fue de 12.8 a 16.88.²⁴ En relación con las terapéuticas de segunda línea se hacen las siguientes consideraciones:⁶

Rituximab y esplenectomía. A pesar de que la esplenectomía exhibe las más altas tasas de remisión global (77 vs 25%), el rituximab tiene el efecto potencial de ahorrar la esplenectomía en 20 a 30% de los pacientes. Ambos tratamientos se consideran terapéuticas definitivas. En la elección de estos dos tratamientos se deben privilegiar las características de cada enfermo y sus preferencias. El balance se inclina de forma moderada hacia el lado del rituximab.

AR-TPO y esplenectomía. Como se comentó previamente hay datos que emergen sugiriendo la remisión

de TIP tras suspender el uso de los AR-TPO; pero por el momento no se consideran agentes inductores de remisión. La necesidad de administración continua de estos medicamentos se balancea con las altas tasas de la respuesta inicial y los escasos efectos adversos. Se puede decir que existe un balance entre las dos opciones terapéuticas. **AR-TPO y rituximab.** El balance entre efectos benéficos aparenta favorecer a los AR-TPO, dada la escasa cantidad de efectos adversos y tasas de respuesta similares para ambos esquemas de tratamiento. El balance se inclina de forma moderada hacia el lado de los AR-TPO. Si la esplenectomía no es una opción o no es deseada por el enfermo se prefieren los AR-TPO sobre rituximab. Si se desea remisión libre de tratamientos las opciones escoger son la esplenectomía o el rituximab. Hay evidencia que sugiere se puede tratar a un enfermo no respondedor a rituximab, con AR-TPO o esplenectomía. Se requiere un alto nivel de decisiones compartidas con el paciente. Mientras la esplenectomía ha declinado sustancialmente con el desarrollo de nuevos tratamientos, aún permanece como la mejor opción de tratamiento de segunda línea costo-efectiva.

Conclusiones

Al momento actual la mayor parte de conocimiento y recomendaciones sobre tratamiento de TIP se basa en evidencia de baja calidad, además de que existen muchas brechas de conocimiento que tendrán que explorarse; desde los términos definitivos de respuesta dispares entre los diferentes estudios, hasta la evaluación de la eficacia y seguridad a largo plazo de los nuevos fármacos prescritos en su tratamiento. Además de lo anterior es evidente que las decisiones terapéuticas

deben enfocarse a la preferencia del paciente y corresponden en estos tiempos a una responsabilidad compartida (paciente-médico).

REFERENCIAS

1. Terrell, DR, Beebe LA, Vesely SK, et al. The incidence of immune thrombocytopenic purpura in children and adults: a critical review of published reports. *Am J Hematol* 2010;85:174-180.
2. Rodeghiero F. A critical appraisal of the evidence for the role of splenectomy in adults and children with ITP. *Br J Hematol* 2018;181(2):183-195.
3. Arnold DM. Platelet count or bleeding as the outcome in ITP trials? *Am J Hematol* 2012;87(10):945-946.
4. Cuker A, Prak ET, Cines DB. Can immune thrombocytopenia be cured with medical therapy? *Semin Throm Hemost* 2015;41(4):395-404.
5. Neunert CE. Management of newly diagnosed immune thrombocytopenia can we change outcomes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2017(1):400-405.
6. Neunert CE, Cooper Nichola. Evidence-based management of immune thrombocytopenia ASH guidelines update. *Hematology Am Soc Edu Program* 2018(1):568-575.
7. Grande CG, Martínez RM, Valcarcel DF, et al. Comparación de guías internacionales sobre púrpura trombocitopénica autoinmune primaria. *Med Clin* 2014;143(9):408-419.
8. Rodeghiero F, Ruggeri M. Treatment of immune thrombocytopenia in adults: the role of thrombopoietin-receptor agonists. *Semin Hematol* 2015;52(1):16-24.
9. George JN, Woolf Sh, Raskob GE, et al. Idiopathic thrombocytopenic purpura: a practice guideline developed by explicit methods for the American Society of Hematology. *Blood* 1996;88:3-40.
10. Guidelines for the investigation and management of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults, children and pregnancy. *Br J Hematol* 2003;120:574-596.

11. Cines DB, Bussell JB. How I treat idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP). *Blood* 2005;106:2244-2251.
12. Provan D, Stasi R, Newland AC, et al. International consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. *Blood* 2010;115:168-186.
13. Neuner C, Lim W, Crowther M, et al. The American Society of Hematology 2011 evidence-based practice guideline for immune thrombocytopenia. *Blood* 2011;117:4190-4207.
14. Mithoowani S, Gregory-Miller K, Goy J, et al. High-dose dexamethasone compared with prednisone for previously untreated primary immune thrombocytopenia: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Hematol* 2016;3(10):e489-e496.
15. Stasi R, Del poeta G, Stipa E, et al. Response to B-cell depleting therapy with rituximab reverts abnormalities of T-cell subsets in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2007;110(8):2924-2930.
16. Pattel VL, Mahévas M, Lee SY, et al. Outcomes 5 years after response to rituximab therapy in children and adults with immune thrombocytopenia. *Blood* 2012;119(25):5989-5995.
17. Cooper N, Stasi R, Cunningham-Rundles S, et al. The efficacy and safety of B-cell depletion with anti-CD20 monoclonal antibody in adults with chronic immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2004;125(2):232-239.
18. Zaja F, Baccarani M, Mazza P, et al. Dexamethasone plus rituximab yields higher sustained response rates than dexamethasone monotherapy in adults with primary immune thrombocytopenia. *Blood* 2010;115(14):2755-2762.
19. Gudbrandsdottir S, Birgens HS, Frederiksen H, et al. Rituximab and dexamethasone vs dexamethasone monotherapy in newly diagnosed patients with primary immune thrombocytopenia. *Blood* 2013;121(11):1976-1981.
20. Gómez-Almaguer D, Tarín-Arzaga L, Moreno-Jaime B, et al. High response rate to low-dose rituximab plus dexamethasone as frontline therapy in adult patients with immune thrombocytopenia. *Eur J Haematol* 2013;90(6):494-500.
21. Ghadami B, Nazi I, Kelton JG, et al. Sustained remissions of immune thrombocytopenia associated with the use of thrombopoietin receptor agonists. *Transfusion* 2013;53(11):2807-2812.
22. Newland A, Gordeau B, Priego V, et al. Remission and platelet responses with romiplostim in primary immune thrombocytopenia: final results from a phase 2 study. *Br J Haematol* 2016;172(2):262-273.
23. Gómez-Almaguer D, Herrera-Rojas MA, Jaime-Pérez JC, et al. Eltrombopag and high-dose dexamethasone as frontline treatment in newly diagnosed immune thrombocytopenic in adults. *Blood* 2014;123(25):3906-3908.
24. Bylsma LC, Fryzek JP, Cetin K, et al. Systematic literature review of treatments used for adult thrombocytopenia (ITP) in the second-line setting. *Am J Hematol* 2019;94(1):118-132.
25. Kojouri K, Vesely SK, Terrell DR, et al. Splenectomy for adult patients with idiopathic thrombocytopenic purpura: a systematic review to assess long-term platelet counts responses, prediction of response, and surgical complications. *Blood* 2004;104(9):2623-2634.
26. Chugh S, Darvish-Kazem S, Lim W, et al. Rituximab plus standard of care for treatment of primary immune thrombocytopenia: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Haematology* 2015;2:e75-e81.
27. Thachil J, Salter I, George JN. Complete remission of refractory immune thrombocytopenia (ITP) with a short course of romiplostim.
28. Vlachaki E, Papageorgiou V, Klonizakis F, et al. Total remission of severe immune thrombocytopenia after short treatment with romiplostim. *Haematol Rep* 2011;3(3):e20.
29. Mahévas M, Farin O, Ebbo M, et al. The temporary use of thrombopoietin-receptor agonists may induce a prolonged remission in adult chronic immune thrombocytopenia. Results of a French observational study. *Br J Haematol* 2014;165(6):865-869.
30. Noronha V, Philip SD, Joshi A, et al. prolonged remission from eltrombopag in chronic refractory idiopathic thrombocytopenic purpura. *Int J Haematol* 2012;96(3):380-382.
31. Chaturvedi S, Arnold DM, McCrae KR. Splenectomy for immune thrombocytopenia: down but not out 2108;131(11):1172-1182.

Persons with all types of multiple sclerosis respond to autologous hematopoietic stem cell transplants employing the Mexican method

Guillermo J Ruiz-Argüelles,^{1,3} Juan Carlos Olivares-Gasca,^{1,3} Andrés A León-Peña,^{1,4} Iván Murieta-Álvarez,^{1,3} Gisela Berenice Gómez-Cruz,^{1,4} Alejandro Ruiz-Argüelles,^{2,3} Manuel Priesca-Marín,¹ Guillermo J Ruiz-Delgado^{1,3}

¹ Centro de Hematología y Medicina Interna de Puebla. Puebla, México.

² Laboratorios Clínicos de Puebla. Puebla, México.

³ Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla. Puebla, México.

⁴ Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México.

Background

With the goal of immune system reset, autologous hematopoietic stem cell transplantations (HSCT) have been done in patients with multiple sclerosis (MS).

Material and methods

After June 2015, 539 consecutive patients with MS were autografted in a single center using non-frozen peripheral blood stem cells, on an outpatient basis and conditioning with cyclophosphamide and rituximab. The protocol was registered in ClinicalTrials.gov identifier NCT02674217.

Results

349 females and 190 males were included; median age was 47 years. 228 patients presented with relapsing remitting MS (RRMS), 206 with secondary progressive (SPMS) and 114 with primary progressive (PPMS). All procedures were started on an outpatient basis and only 21 persons needed to be admitted to the hospital during the procedure. In order to obtain at least $1 \times 10^6/\text{kg}$ viable CD34 cells, one to three apheresis were performed (median 1). Total number of viable CD34+ cells infused ranged between 1 and $37.83 \times 10^6/\text{kg}$ (median 5.62). Patients recovered above $0.5 \times 10^9/\text{L}$ absolute granulocytes on day 8 (median, range 2 to 13), whereas platelet recovery above $20 \times 10^9/\text{L}$ on day 4 (median, range 0 to 10). Five individuals required red blood

cells and 5 needed platelet transfusions. There were no transplant related deaths and the 30-month overall survival of the patients is 100%. Patients with RRMS or PPMS had a significant drop in the EDSS before and 15-mo after the transplant, whereas patients with SPMS remained stable. The response rate (either drop or stabilization of the EDSS score) at 12 months was 78% for RRMS, 81% for PPMS and 73% for SPMS, whereas the relapse-free survival was 84% for all patients (92% for PPMS, 83% for RRMS and 81% for SPMS). (Figure 1,2,3,4,5)

Conclusions

Changes in the EDSS score consonant with neurological improvement were observed in persons with all types of MS after HSCT employing the "Mexican method".

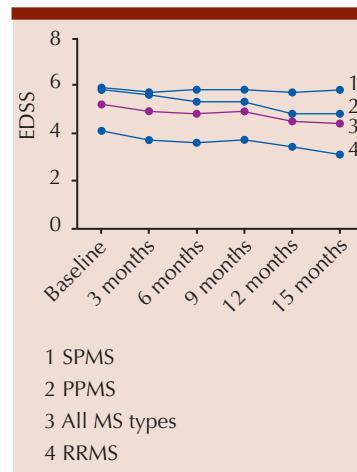


Figure 1. Changes in the expanded disability status scale (EDSS) score after the HSCT in patients with secondary progressive multiple sclerosis (SPMS), primary progressive (PPMS) and relapsing remitting (RRMS). The EDSS drop is more marked in RRMS.

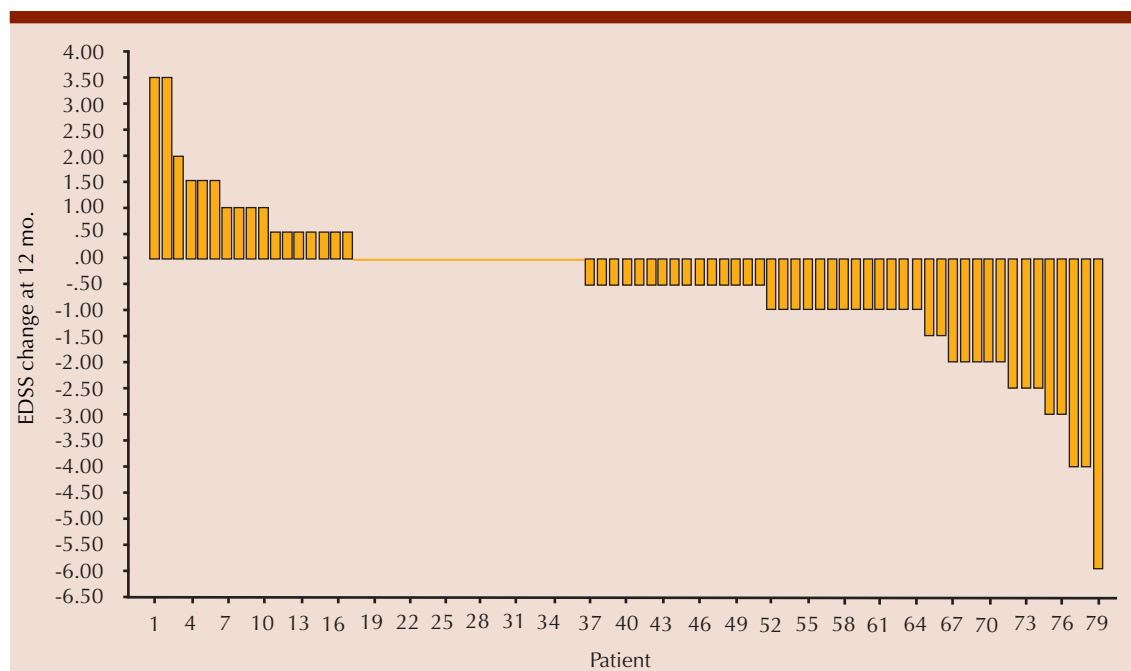


Figure 2. Waterfall plot of the changes in the expanded disability status scale (EDSS) score 12 months after the HSCT in patients with relapsing remitting multiple sclerosis (RRMS), n = 79. 62 patients (78%) had a response (42 improved and 20 stabilized), whereas 17 did not respond.

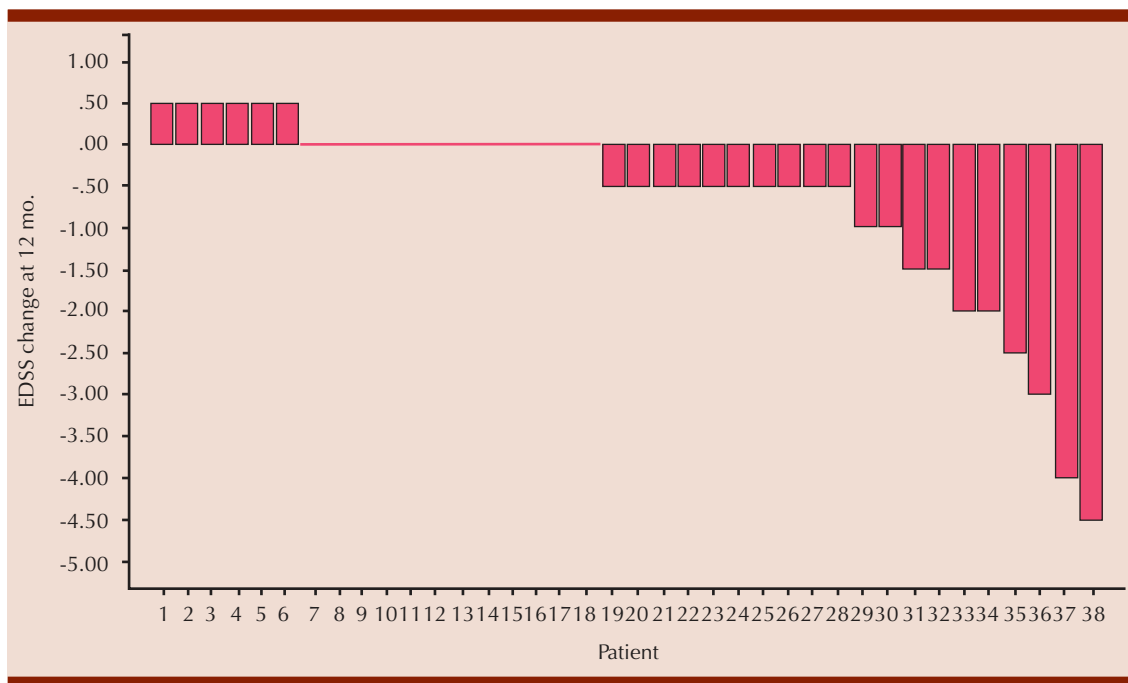


Figure 3. Waterfall plot of the changes in the expanded disability status scale (EDSS) score 12 months after the HSCT in patients with primary progressive multiple sclerosis (PPMS), n = 38. 31 patients (81%) had a response (19 improved and 12 stabilized), whereas 7 did not respond.

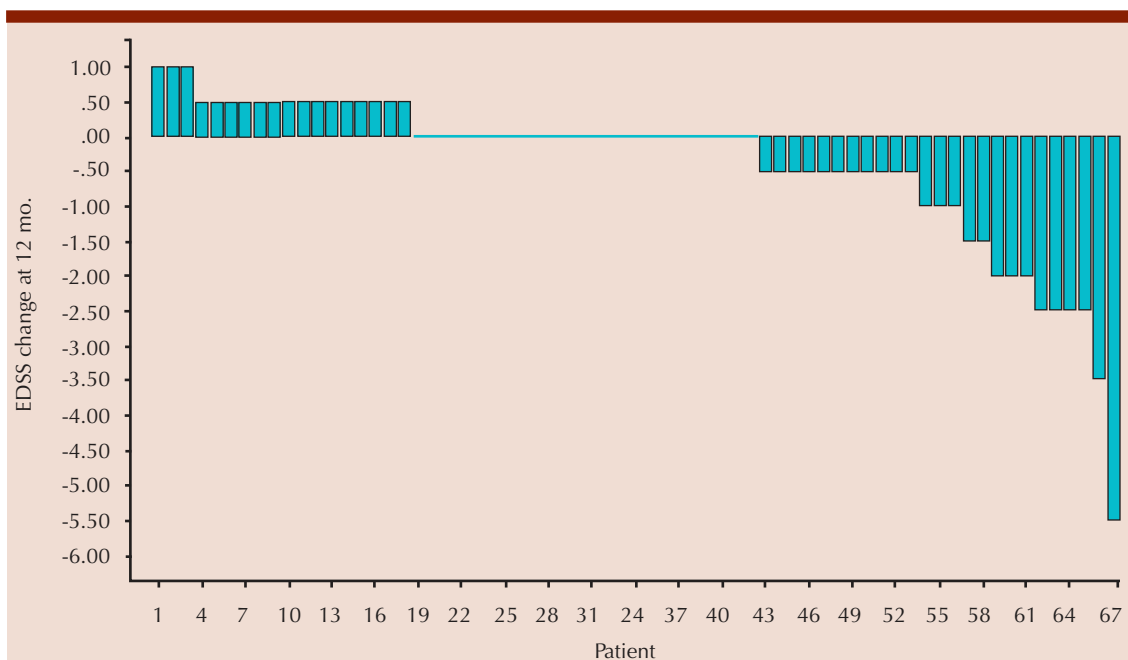


Figure 4. Waterfall plot of the changes in the expanded disability status scale (EDSS) score 12 months after the HSCT in patients with secondary progressive (SPMS), n = 67. 49 patients (73%) had a response (25 improved and 24 stabilized), whereas 18 did not respond.