

**ARTÍCULOS ORIGINALES**

- 113 Caracterización clínico-demográfica y evaluación de marcadores de pronóstico en pacientes diagnosticados con linfoma de células del manto en una institución de salud de Colombia, 2018-2021**  
*Jennifer Melissa Adams Parra, Angélica María Paola Jiménez Mejía, John Fredy Cuervo Pérez, Diana Mercedes Lozano Bohórquez*
- 128 Coagulopatía inducida por COVID-19, de la bibliografía a la práctica clínica**  
*Bruno Samaniego Segovia, César Alejandro Rodríguez Salinas, Arnulfo González Cantú, Jorge Luis Montemayor Montoya, Diego Jaime Villalón, Cosette De la Mora*
- 136 Detección de FLT3-ITD y su papel en el diagnóstico de pacientes pediátricos con leucemia mieloide aguda**  
*Elizabeth Candy Ramírez Martínez, Víctor Manuel Ortiz Gálvez, Dinora Virginia Aguilar Escobar, María de Lourdes Vega Vega, Sergio Antonio Garay Sánchez*

**REVISIÓN NARRATIVA**

- 145 L-asparaginasa en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda, sus efectos adversos y oportunidades en la optimización del tratamiento**  
*Jesús Alonso Gándara Mireles, Ismael Lares Asseff, Elio Aarón Reyes Espinoza, Lourdes Patricia Córdova Hurtado, Flor de María Reyes Gutiérrez, Antonio Sandoval Cabrera, Verónica Loera Castañeda, Carla Díaz González, Agustín García Vázquez, Ana Rebeca Nava Rodríguez, Leslie Patrón Romero, Horacio Almanza Reyes*

**CASOS CLÍNICOS**

- 163 Linfoma no Hodgkin de células T/NK nasal**  
*Georgina Rodríguez Miramontes, Eduardo Rafael Calderón Quiroz, Frida Fernanda Luna De la Sancha, Norberto Vásquez Guzmán, José Samuel Almeida Navarro*
- 169 Leucemia de linfocitos grandes tipo NK en un adulto joven**  
*Frana Norzagaray Orduño, Lluvia Sughey Sosa Quintero, Benjamín Rubio Jurado, Diana Alonso Gálvez, Jesús Manuel Ramírez Acuña, Aníbal Sánchez Soltero, Aimee Amairani Coronado Rosales, Gerardo García Magaña, Jackeline Anaya Casillas, María Fernanda Arguelles Espinoza, Marlene Imelda Martínez Vivanco, Jorge Daniel Maldonado Gómez, Andrea Balmaceda Moreno, Marco Antonio Bernal González, Ivan Martínez Lagunes, Daniel Alejandro Trejo Chavira, José Israel Soto González, José Antonio Osuna Díaz, Brenda Leticia Rojas Aguilar*
- 174 Derrame pleural como manifestación inicial de linfoma no Hodgkin patrón mixto asociado con leucemia linfoblástica aguda de precursores T**  
*Eduardo Sánchez Zazueta, Jesús Anguamea Maldonado, Jonnathan González Sánchez*

# Revista de **HEMATOLOGÍA**

**Rev Hematol Mex 2023; 24: julio-septiembre**

## **EDITOR EN JEFE**

Luis M. VILLELA-MARTÍNEZ. Hermosillo, México

## **EDITOR OPERATIVO**

Efreen MONTAÑO-FIGUEROA. Ciudad de México, México

## **EDITORES ASOCIADOS**

Oscar GONZÁLEZ-LLANO. Monterrey, México  
Carlos BEST-AGUILERA. Guadalajara, México  
Amalia BRAVO-LINDORO. Ciudad de México, México  
Alejandro LAZO-LANGNER, London, ON, Canadá

## **COMITÉ EDITORIAL**

Álvaro AGUAYO. Ciudad de México, México  
Javier BOLAÑOS-MEADE. Baltimore, EUA  
Jorge CORTÉS. Houston, EUA  
Aurora DE-LA-PEÑA. Ciudad de México, México  
Sergio GIRALT. Nueva York, EUA  
David GÓMEZ-ALMAGUER. Monterrey, México  
Renán A. GÓNGORA-BIACHI†. Mérida, México  
Bertha IBARRA. Guadalajara, México  
José Carlos JAIME-PÉREZ. Monterrey, México  
Francesco LO COCO. Roma, Italia  
Xavier LÓPEZ-KARPOVITCH. Ciudad de México, México  
Alejandro MADRIGAL. Londres, Inglaterra  
Carlos MARTÍNEZ-MURILLO. Ciudad de México, México  
Héctor MAYANI. Ciudad de México, México  
Rubén A. MESA. Scottsdale, EUA  
José María MORALEDA. Murcia, España  
Rubén NIESVIZKY. Nueva York, EUA  
Victoria OTERO. Argentina  
Guillermo J. RUIZ-ARGÜELLES. Puebla, México  
Guillermo J. RUIZ-DELGADO. Puebla, México  
Arlette RUIZ-de-SAEZ. Caracas, Venezuela  
Jesús F. SAN-MIGUEL. Salamanca, España  
Sofía SÁNCHEZ. Ciudad de México, México  
Luz del Carmen TARIN-ARZAGA. Monterrey, México  
José Francisco TOMAS. Madrid, España  
Enrique TORRE-LÓPEZ. San Luis Potosí, México  
Jorge VELA-OJEDA. Ciudad de México, México

## **FUNDADOR**

Dr. Luis SÁNCHEZ-MEDAL†

## **PRESIDENTE**

Dra. María de los Angeles DEL CAMPO MARTÍNEZ

## **VICEPRESIDENTE**

Dr. Efren MONTAÑO FIGUEROA

## **SECRETARIO**

Dr. Pedro Arturo ZÁRATE RODRÍGUEZ

## **TESORERO**

Dra. Brenda Lizeth ACOSTA MALDONADO

## **VOCAL DE ACTIVIDADES ACADÉMICAS**

Dr. Andrés GÓMEZ DE LEÓN

## **VOCAL DE MEMBRESÍA**

Dr. Efraín AQUINO FERNÁNDEZ

## **GERENTE ADMINISTRATIVO**

Mayra OVIEDO-PELL

**Revista de Hematología**, año 24, julio-septiembre, 2023, es una publicación trimestral editada por la Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, A.C. San Francisco 1626, Desp. 406, Colonia Del Valle, Delegación Benito Juárez, CP 03100, México, DF. Tel.: 52 (55) 5524-1112, 52 (55) 5534-1856, [www.amehac.org](http://www.amehac.org).

Editor responsable: Luis M. Villela-Martínez. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo otorgado por el Instituto Nacional del Derecho de Autor: 04-2013-012813573700-102. ISSN: 2448-4709, otorgado por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Certificado de Licitud de Título en trámite. Certificado de Licitud de Contenido en trámite, otorgados por la Comisión Calificadora de Publicaciones y Revistas Ilustradas de la Secretaría de Gobernación.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación.

Queda estrictamente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización de la Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, A.C.

Publicación realizada, comercializada y distribuida por **Edición y Farmacia SA de CV** (Nieto Editores®). Av. Chamizal 97, Colonia La Trinidad, Texcoco 56130, Estado de México. [www.nietoeditores.com.mx](http://www.nietoeditores.com.mx).



**CONTENIDO**

**CONTENTS**

**ARTÍCULOS ORIGINALES**

- 113 **Caracterización clínico-demográfica y evaluación de marcadores de pronóstico en pacientes diagnosticados con linfoma de células del manto en una institución de salud de Colombia, 2018-2021**  
*Jennifer Melissa Adams Parra, Angélica María Paola Jiménez Mejía, John Fredy Cuervo Pérez, Diana Mercedes Lozano Bohórquez*
- 128 **Coagulopatía inducida por COVID-19, de la bibliografía a la práctica clínica**  
*Bruno Samaniego Segovia, César Alejandro Rodríguez Salinas, Arnulfo González Cantú, Jorge Luis Montemayor Montoya, Diego Jaime Villalón, Cosette De la Mora*
- 136 **Detección de FLT3-ITD y su papel en el diagnóstico de pacientes pediátricos con leucemia mieloide aguda**  
*Elizabeth Candy Ramírez Martínez, Víctor Manuel Ortiz Gálvez, Dinora Virginia Aguilar Escobar, María de Lourdes Vega Vega, Sergio Antonio Garay Sánchez*

**REVISIÓN NARRATIVA**

- 145 **L-asparaginasa en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda, sus efectos adversos y oportunidades en la optimización del tratamiento**  
*Jesús Alonso Gándara Mireles, Ismael Lares Asseff, Elio Aarón Reyes Espinoza, Lourdes Patricia Córdova Hurtado, Flor de María Reyes Gutiérrez, Antonio Sandoval Cabrera, Verónica Loera Castañeda, Carla Díaz González, Agustín García Vázquez, Ana Rebecca Nava Rodríguez, Leslie Patrón Romero, Horacio Almanza Reyes*

**CASOS CLÍNICOS**

- 163 **Linfoma no Hodgkin de células T/NK nasal**  
*Georgina Rodríguez Miramontes, Eduardo Rafael Calderón Quiroz, Frida Fernanda Luna De la Sancha, Norberto Vásquez Guzmán, José Samuel Almeida Navarro*
- 169 **Leucemia de linfocitos grandes tipo NK en un adulto joven**  
*Frania Norzagaray Orduño, Lluvia Sugey Sosa Quintero, Benjamín Rubio Jurado, Diana Alonso Gálvez, Jesús Manuel Ramírez Acuña, Aníbal Sánchez Soltero, Aimee Amairani Coronado Rosales, Gerardo García Magaña, Jackeline Anaya Casillas, María Fernanda Arguelles Espinoza, Marlene Imelda Martínez Vivanco, Jorge Daniel Maldonado Gómez, Andrea Balmaceda Moreno, Marco Antonio Bernal González, Ivan Martínez Lagunes, Daniel Alejandro Trejo Chavira, José Israel Soto González, José Antonio Osuna Díaz, Brenda Leticia Rojas Aguilar*
- 174 **Derrame pleural como manifestación inicial de linfoma no Hodgkin patrón mixto asociado con leucemia linfoblástica aguda de precursores T**  
*Eduardo Sánchez Zazueta, Jesús Anguamea Maldonado, Jonnathan González Sánchez*

**ORIGINAL ARTICLES**

- 113 **Clinical-demographic characterization and evaluation of prognostic markers in patients diagnosed with mantle cell lymphoma in a health institution in Colombia, 2018-2021**  
*Jennifer Melissa Adams Parra, Angélica María Paola Jiménez Mejía, John Fredy Cuervo Pérez, Diana Mercedes Lozano Bohórquez*
- 128 **Approach of COVID-19 induced coagulopathy, from literature to the clinical practice**  
*Bruno Samaniego Segovia, César Alejandro Rodríguez Salinas, Arnulfo González Cantú, Jorge Luis Montemayor Montoya, Diego Jaime Villalón, Cosette De la Mora*
- 137 **Detection of FLT3-ITD and its role in the diagnosis of pediatric patients with acute myeloid leukemia**  
*Elizabeth Candy Ramírez Martínez, Víctor Manuel Ortiz Gálvez, Dinora Virginia Aguilar Escobar, María de Lourdes Vega Vega, Sergio Antonio Garay Sánchez*

**NARRATIVE REVIEW**

- 145 **L-asparaginase in the treatment of acute lymphoblastic leukemia, its adverse effects, and opportunities for treatment optimization**  
*Jesús Alonso Gándara Mireles, Ismael Lares Asseff, Elio Aarón Reyes Espinoza, Lourdes Patricia Córdova Hurtado, Flor de María Reyes Gutiérrez, Antonio Sandoval Cabrera, Verónica Loera Castañeda, Carla Díaz González, Agustín García Vázquez, Ana Rebecca Nava Rodríguez, Leslie Patrón Romero, Horacio Almanza Reyes*

**CLINICAL CASES**

- 163 **Nasal natural killer/T cell lymphoma**  
*Georgina Rodríguez Miramontes, Eduardo Rafael Calderón Quiroz, Frida Fernanda Luna De la Sancha, Norberto Vásquez Guzmán, José Samuel Almeida Navarro*
- 169 **NK-type large lymphocyte leukemia in a young adult**  
*Frania Norzagaray Orduño, Lluvia Sugey Sosa Quintero, Benjamín Rubio Jurado, Diana Alonso Gálvez, Jesús Manuel Ramírez Acuña, Aníbal Sánchez Soltero, Aimee Amairani Coronado Rosales, Gerardo García Magaña, Jackeline Anaya Casillas, María Fernanda Arguelles Espinoza, Marlene Imelda Martínez Vivanco, Jorge Daniel Maldonado Gómez, Andrea Balmaceda Moreno, Marco Antonio Bernal González, Ivan Martínez Lagunes, Daniel Alejandro Trejo Chavira, José Israel Soto González, José Antonio Osuna Díaz, Brenda Leticia Rojas Aguilar*
- 174 **Pleural effusion as the initial presentation of mixed pattern non-Hodgkin lymphoma associated with T precursor acute lymphoblastic leukemia**  
*Eduardo Sánchez Zazueta, Jesús Anguamea Maldonado, Jonnathan González Sánchez*



doi.org/10.24245/rev\_hematol.v24i3.8907

# Caracterización clínico-demográfica y evaluación de marcadores de pronóstico en pacientes diagnosticados con linfoma de células del manto en una institución de salud de Colombia, 2018-2021

## Clinical-demographic characterization and evaluation of prognostic markers in patients diagnosed with mantle cell lymphoma in a health institution in Colombia, 2018-2021.

Jennifer Melissa Adams Parra,<sup>1,3</sup> Angélica María Paola Jiménez Mejía,<sup>3</sup> John Fredy Cuervo Pérez,<sup>2,3</sup> Diana Mercedes Lozano Bohórquez<sup>4</sup>

### Resumen

**OBJETIVO:** Describir las características clínico-demográficas y patológicas con valor pronóstico en el diagnóstico de pacientes con linfoma de células del manto en una institución prestadora de servicios de salud de tercer nivel de Colombia.

**MATERIALES Y MÉTODOS:** Estudio descriptivo de corte transversal en el que se incluyeron pacientes con diagnóstico de linfoma de células del manto de 2018 a 2021 de una institución de salud en Colombia. La información se recolectó a partir de historias clínicas y el análisis estadístico se realizó en SPSS versión 25.0.

**RESULTADOS:** Se incluyeron 50 pacientes. Se encontró mayor incidencia en hombres, con media de edad de 65 años, los ganglios linfáticos fueron los órganos más afectados y la variante clásica e infiltración mixta las más prevalentes. Entre los hallazgos más relevantes resaltó la asociación estadística entre la hemoglobina y el MIPI, mostrando que los pacientes con anemia tienen mayor probabilidad de pertenecer al grupo de riesgo alto.

**CONCLUSIONES:** Este estudio contribuye con datos de la incidencia de esta neoplasia en Colombia, identificando factores que afectan su evolución y gravedad; además de generar nuevas hipótesis para continuar en la búsqueda de marcadores de pronóstico que aporten al clínico mayor acercamiento a la realidad de cada paciente permitiendo una atención más personalizada.

**PALABRAS CLAVE:** Linfoma de células del manto; diagnóstico; pronóstico; anemia; Colombia.

### Abstract

**OBJECTIVE:** To describe the clinical-demographic and pathological characteristics with prognostic value in the diagnosis of patients with mantle cell lymphoma in a tertiary health service provider institution in Colombia.

**MATERIALS AND METHODS:** A descriptive cross-sectional study was carried out where patients diagnosed with mantle cell lymphoma from 2018 to 2021 of a health institution were included. The information was collected from medical records and the statistical analysis was performed in SPSS version 25.0.

<sup>1</sup> Unidad de biología molecular, Ayudas diagnósticas sura, Medellín, Colombia.

<sup>2</sup> Unidad de genética, Ayudas diagnósticas sura, Medellín, Colombia.

<sup>3</sup> Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

<sup>4</sup> Departamento de patología, Clínica Somer, Rionegro, Colombia.

**Recibido:** septiembre 2023

**Aceptado:** octubre 2023

### Correspondencia

Jennifer M Adams  
jmadamp@sura.com.co.

### Este artículo debe citarse como:

Adams-Parra JM, Jiménez-Mejía AMP, Cuervo-Pérez JF, Lozano-Bohórquez DM. Caracterización clínico-demográfica y evaluación de marcadores de pronóstico en pacientes diagnosticados con linfoma de células del manto en una institución de salud de Colombia, 2018-2021. Hematol Méx 2023; 24 (3): 113-127.

**RESULTS:** There were included 50 patients. A higher incidence was found in men, with a mean age of 65 years, with lymph nodes being the most affected organs and the classic variant and mixed infiltration being the most prevalent. Among the most relevant findings, the statistical association between hemoglobin and MIPI stood out, showing that patients with anemia were more likely to belong to the high-risk group.

**CONCLUSIONS:** This study contributes with data on the incidence of this neoplasia in Colombia, identifying factors that affect its evolution and severity. In addition, it generates new hypotheses to continue in the search for prognostic markers that provide the clinician with a greater approach to the reality of each patient, allowing more personalized care.

**KEYWORDS:** Mantle cell lymphoma; Diagnosis; Prognosis; Anemia; Colombia.

## ANTECEDENTES

Los linfomas son neoplasias hematológicas malignas caracterizados por proliferaciones clonales que resultan de alteraciones genéticas;<sup>1</sup> entre éstos, las neoplasias de células B son las más comunes, representando aproximadamente el 90% de los casos.<sup>1,2</sup>

En el 2019 el CDC reportó una incidencia de 18.1 casos por 100,000 habitantes de linfoma no Hodgkin, tasa superior a los casos de leucemia (13.2).<sup>3</sup> En 2020 GLOBOCAN reportó 544,352 nuevos casos de linfoma no Hodgkin en el mundo, de los cuales 4242 ocurrieron en Colombia, representando el 3.7% de los casos de cáncer; ubicándose entre las diez neoplasias más frecuentes.<sup>4</sup> Para 2021 hubo un registro en Colombia de 3712 casos de neoplasias hematológicas, de los cuales 1967 (52.9%) correspondieron a linfomas, con una proporción de 1519 casos nuevos reportados de linfoma no Hodgkin, observándose un aumento en la mortalidad con respecto a 2020.<sup>5</sup>

El linfoma de células del manto representa del 3 al 10% de los linfomas no Hodgkin<sup>6</sup> con una

incidencia de 1 a 2 casos por 100,000 habitantes;<sup>7</sup> edad promedio de aparición entre 60 y 70 años y leve predominio en el sexo masculino.<sup>6,7</sup> Entre años 2000 y 2006 en Bucaramanga, Colombia, un estudio reportó al linfoma de células del manto en el cuarto lugar (3.1%) entre los linfomas no Hodgkin.<sup>8</sup> Sin embargo, a la fecha en el país no hay estadística reportada de la incidencia y mortalidad actual del linfoma de células del manto.<sup>5</sup>

Entre los factores causales asociados están las inmunodeficiencias, los factores ambientales, las infecciones por virus, el estilo de vida y el antecedente familiar de neoplasias hematológicas. No obstante, en la mayoría de los pacientes la causa sigue siendo desconocida.<sup>9,10,11</sup>

El linfoma de células del manto es una neoplasia de células B maduras caracterizada principalmente por la  $t(11;14)(q13;q32)(IGH/CCND1)$ .<sup>6,12</sup> Ésta se encuentra presente en el 95% de los casos, afectando el gen de ciclina D1 (*CCND1*) y la región variable de la cadena pesada de la inmunoglobulina (*IGHV*), considerándose el primer evento implicado que conlleva a la desregulación del ciclo celular;

sin embargo, no es el único suceso desencadenante de la transformación maligna de los linfocitos,<sup>6,13</sup> también existen otras alteraciones relacionadas con el pronóstico como mutaciones en el gen ataxia telangiectasia mutado (*ATM*), proteína tumoral p53 (*P53*), el inhibidor de cinasa dependiente de ciclina 2A (*CDKN2A*) y *NOTCH1/2* en un 43.5, 26.8, 23.9 y 10%, respectivamente.<sup>14,15</sup>

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en su última actualización<sup>16</sup> reconoció tres subtipos de linfoma de células del manto: el tipo clásico es el más común y agresivo, son células B *SOX11(+)* mínimamente mutadas o no mutadas en el gen *IGHV*, que afectan nódulos linfáticos y sitios extranodales; el subtipo leucémico no ganglionar se caracteriza por ser menos agresivo, son células *SOX11(-)* y muestran la mutación para el gen *IGHV*, afectando principalmente la médula ósea, la sangre periférica y el bazo.<sup>6,12,17</sup> Por último, está la neoplasia de células del manto *in situ* que tiene un significado clínico incierto y se caracteriza por células *CCND1(+)* que permanecen delimitadas en la zona del manto.<sup>16,17,18</sup> El *SOX11* es un factor de transcripción muy útil que apoya el diagnóstico del linfoma de células del manto, ya que su sobreexpresión se encuentra en más del 90% de los casos, incluso en pacientes con ciclina D1 negativo.<sup>19</sup>

Los pacientes con linfoma de células del manto manifiestan síntomas B<sup>6</sup> en aproximadamente el 50% de los casos;<sup>20</sup> este linfoma generalmente se diagnostica en estadios avanzados con poliadenopatías, esplenomegalia e infiltración a la médula ósea,<sup>12</sup> que sobreviene en un 50 a 91% de los casos. La afectación gastrointestinal se observa en un 10-25% y la afectación del sistema nervioso central en el 10 al 20%, asociándose con progresión de la neoplasia.<sup>21,22</sup> El daño del sistema nervioso central es más frecuente en pacientes con variante blastoide y se ha asociado con mayor probabilidad de recaída y menor supervivencia.<sup>23</sup>

El diagnóstico se establece por biopsia, inmunofenotipo y citogenética.<sup>24</sup> En la biopsia se identifica la morfología de los linfocitos y el tipo de infiltración; en la morfología se encuentra la clásica, blastoide y pleomórfica.<sup>6,25</sup> En cuanto a los patrones de crecimiento están el difuso, nodular y tipo manto; es importante tener en cuenta que un mismo paciente puede mostrar una combinación de estos patrones "mixta".<sup>6,25</sup> El inmunofenotipo característico es: CD20(+), CD43(+), CD5(+), CD10(-), CD23(-), CD200(-), Bcl6(-), *CCND1(+)* y *SOX 11(+)* y, finalmente, el diagnóstico citogenético realizado por hibridación *in situ* fluorescente (FISH) permite observar la *t(11;14)(q13;q32)*.<sup>6</sup>

Para ayudar a predecir el riesgo y determinar el promedio de supervivencia se propuso en 2008 el Índice de Pronóstico Internacional para el linfoma de células del manto (MIPI), que se calcula teniendo en cuenta la edad, el Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG), relación de lactato deshidrogenasa (LDH) y glóbulos blancos (GB). El MIPI clasifica a los pacientes en tres grupos según el puntaje obtenido: riesgo bajo (0 a 3 puntos) con supervivencia reportada a 5 años del 60%, riesgo intermedio (4 a 5 puntos) con supervivencia de 51 meses y riesgo alto (6 a 11 puntos) con supervivencia de 29 meses.<sup>20</sup> Además, de forma complementaria se propuso la medición por inmunohistoquímica del *Ki-67* como marcador pronóstico, que mide el porcentaje de infiltración de células tumorales;<sup>26</sup> éste se considera de alto riesgo cuando es mayor del 30% y de riesgo bajo cuando es menor a este valor.<sup>20,27</sup>

En estudios realizados se han reportado variaciones en el perfil inmunofenotípico, considerando algunos inmunomarcadores aberrantes, con un papel pronóstico poco conocido.<sup>28,29</sup> Los patrones de infiltración también han mostrado asociación con el pronóstico y se ha encontrado relación de la infiltración difusa con otras variables consideradas de mal pronóstico, como la edad avanzada y la morfología blastoide.<sup>30</sup>



Debido a la diversidad poblacional de países como Colombia, es importante estudiar el comportamiento de este tipo de neoplasias para comprender mejor su manifestación clínica y tener mayor conocimiento y descripción de los factores que pueden estar relacionados con el pronóstico, lo que ayuda a abordar de manera más eficiente el diagnóstico y tratamiento oportuno. Por lo que en este estudio se planteó como objetivo principal describir las características clínico-demográficas y patológicas con valor pronóstico en el diagnóstico de pacientes con linfoma de células del manto en una institución prestadora de servicios de salud de tercer nivel de Colombia de 2018 a 2021.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio descriptivo de corte transversal, que incluyó pacientes con linfoma de células del manto diagnosticados en una institución de salud de acuerdo con los criterios de la OMS de enero de 2018 a julio de 2021 en las ciudades de Medellín, Bogotá, Cali y Barranquilla.

### Recolección de la información

La información se recolectó de fuentes secundarias como registros médicos y del sistema de información de historias clínicas tras la aprobación del comité de ética en investigación y buenas prácticas clínicas; se diseñó una base de datos en la que se recolectó información, como datos demográficos (sexo y edad), variables clínicas como el órgano primario infiltrado, ECOG, GB, valor absoluto de linfocitos, plaquetas, hemoglobina, células atípicas en extendido de sangre periférica (ESP), LDH, beta 2-microglobulina (B2M), variante morfológica y patrón arquitectural. También se incluyó el inmunofenotipo CD20, CD5, CD10, CD23 y CD200 evaluados por citometría de flujo y *ciclina D1*, *SOX11*, CD10 y Ki-67 por inmunohistoquímica; así como la afectación a la médula ósea, el sistema nervioso central y el porcentaje

de infiltración a la médula ósea, evaluados por citometría de flujo.

Como variable dependiente se tomó el MIPI. Para calcular la relación LDH se tuvo en cuenta el límite superior de normalidad establecido por la institución según el sexo; siendo de 225 U/L en hombres y de 214 U/L en mujeres. El estado ECOG se calculó según el nivel de capacidad para realizar actividades o su capacidad para el autocuidado.<sup>31</sup>

Asimismo, se realizó relectura de las placas de biopsia de los órganos primarios infiltrados por parte de una patóloga experta, que determinó el tipo de morfología y el patrón de infiltración. Finalmente, se estableció si los pacientes continuaban vivos a la fecha de corte del estudio. Esta información se obtuvo a partir de los registros clínicos disponibles de los pacientes que tenían seguimiento posterior al diagnóstico.

### Análisis estadístico

Las variables cualitativas se presentaron con frecuencias absolutas y relativas porcentuales, utilizando la prueba exacta de Fisher en el análisis bivariado. Para las variables de naturaleza cuantitativa, se calcularon las medidas de tendencia central y dispersión de acuerdo con la normalidad asignada por Shapiro-Wilk (para variables con distribución normal se reportó media y desviación estándar); de las de distribución no normal se reportó mediana y rango intercuartílico (RI), posteriormente se realizó la prueba ANOVA o de Kruskal-Wallis según correspondiera; cuando el resultado fue significativo, se realizó la prueba *post hoc* de Bonferroni para establecer las asociaciones presentes por cada categoría.

Por último, se realizó una regresión logística multinomial, tomando como categoría de referencia riesgo bajo. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa SPSS versión 25.0 y se consideró un valor de significación  $\alpha \leq 0.05$ .

### Consideraciones éticas

Este proyecto fue revisado y aprobado por el comité de ética en investigación y buenas prácticas clínicas de la institución de salud y fue considerado sin riesgo según la resolución 8430 de 1993.

### RESULTADOS

En el periodo evaluado se identificaron 56 pacientes con diagnóstico de linfoma de células del manto, de los cuales 6 se excluyeron por recaídas. De los 50 pacientes incluidos, 35 eran hombres y la edad promedio fue de 65 años.

El **Cuadro 1** muestra las características demográficas y clínicas de los pacientes; 26/50 tuvieron afectación inicial en los ganglios linfáticos, 18/50 en la médula ósea y los 6 restantes en otros órganos, como el estómago, el intestino y la orofaringe. La variante morfológica pudo evaluarse en 43 casos siendo la más frecuente la clásica; el tipo de infiltración mixto fue el más común ( $n = 17$ ), seguido de la infiltración nodular; por su lado, la infiltración a la médula ósea ( $n = 35$ ) estuvo presente en el 64% y la infiltración del sistema nervioso central se encontró en 2 de 11 pacientes; la leucemización del linfoma se identificó en 11 de los 47 casos evaluados. Respecto al ECOG ( $n = 32$ ), la mayoría de la población se clasificó de 0 a 1.

**Cuadro 1.** Características demográficas y clínicas ( $n = 50$ ) (continúa en la siguiente columna)

Variables	Núm.
<b>Sexo</b>	
Masculino	35
Femenino	15
<b>Órgano primario infiltrado</b>	
Ganglio linfático	26
Médula ósea	18

**Cuadro 1.** Características demográficas y clínicas ( $n = 50$ ) (continuación)

Variables	Núm.
Otros	6
<b>Subtipo citológico</b>	
Clásico	27
Blastoide	11
Pleomórfico	5
Sin información	7
<b>Tipo de infiltración</b>	
Nodular	5
Difusa	4
Tipo manto	1
Mixto	7
Sin información	33
<b>Infiltración a la médula ósea</b>	
Presente	32
Ausente	3
Sin información	15
<b>Infiltración al sistema nervioso central</b>	
Presente	2
Ausente	9
Sin información	39
<b>Leucemizado</b>	
Sí	11
No	36
Sin información	3
<b>ECOG</b>	
0-1	32
2-4	9
Sin información	9
<b>MIPI</b>	
Riesgo bajo	15
Riesgo intermedio	10
Riesgo alto	13
Sin información	12
<b>Estado final del paciente</b>	
Vivo	35
Muerto	4
Sin información	11

De los 50 pacientes incluidos, 38 tenían la información completa para calcular el MIPI. De éstos, el 54% presentaron riesgo bajo, 20% intermedio y 26% alto. Por último, se evaluó el estado final de los pacientes (n = 39) que tenían seguimiento en registros clínicos, encontrando que, a la fecha de cierre de recolección de la información, 35 pacientes continuaban vivos, mientras que 4 habían fallecido, dos de ellos a causa de la pandemia por COVID-19.

En el **Cuadro 2** se muestra el inmunofenotipo, los marcadores más comunes encontrados en la población de estudio fueron CD20(+), CD10(-), CD200(-), CD23(-), CD5(+), ciclina D1 y *SOX11* positivo. El *Ki-67* se clasificó en menor y mayor del 30%; se encontró que 14 pacientes tuvieron un valor menor del 30% y 18 un valor mayor al 30%.

De acuerdo con la distribución de normalidad de las variables cuantitativas, se calcularon las medidas de tendencia central; en el **Cuadro 3** se muestra que la población de estudio tuvo una mediana de leucocitos, linfocitos, plaquetas y una media de hemoglobina dentro de los valores de referencia normal, estos datos se calcularon en 48 pacientes.

En el **Cuadro 4** se presentan las frecuencias de los inmunomarcadores en los 38 pacientes que fueron clasificados en los grupos MIPI. La distribución de las frecuencias fue muy similar en todos los grupos, sin encontrarse una tendencia de los datos ni asociaciones estadísticamente significativas.

En el **Cuadro 5** se observa la distribución y asociación estadística entre las variables clínicas y demográficas cualitativas con la clasificación MIPI; encontrándose asociaciones significativas con la infiltración a la médula ósea ( $p = 0.038$ ), estado ECOG ( $p \leq 0.001$ ) y leucemización ( $p = 0.009$ ). Se encontró que el 100% de los casos

**Cuadro 2.** Variables de inmunofenotipo (n = 50)

Variable	Núm.
<b>CD20</b>	
Positivo	49
Negativo	1
<b>CD10</b>	
Positivo	3
Negativo	43
Sin información	4
<b>CD200</b>	
Negativo	25
Débil	1
Sin información	24
<b>CD23</b>	
Negativo	37
Débil	2
Sin información	11
<b>CD5</b>	
Positivos	31
Negativos	4
Débil	10
Sin información	5
<b>Ciclina D1</b>	
Positivo	42
Negativo	6
Débil	2
<b>SOX 11</b>	
Positivo	44
Negativo	2
Sin información	4
<b>Ki-67</b>	
< 30%	14
>30%	18
Sin información	18

clasificados en riesgo alto tuvieron infiltración a la médula ósea; por su lado, el estado ECOG 2-4 no se encontró en pacientes con riesgo bajo ni intermedio, pero el 61.5% de los pacientes con riesgo alto tenían este estadio; la mayoría

**Cuadro 3.** Medidas de resumen de variables demográficas y clínicas

Variable	Media $\pm$ desviación estándar	Mediana (rango intercuartílico)
Edad	65 $\pm$ 11	
Infiltración a la médula ósea (%)		9.61 (2.78-63.47)
Leucocitos (mm <sup>3</sup> )		8255 (6190-13,600)
Linfocitos (mm <sup>3</sup> )		1930 (1540-3875)
Hemoglobina (g/dL)	12 $\pm$ 3	
Plaquetas (mm <sup>3</sup> )		211,500 (140,000-282,000)
B2M (mg/L)		4.27 (2.71-5.40)
LDH (U/L)		211 (182-283)
Ki-67 (%)	43 $\pm$ 26	

**Cuadro 4.** Inmunomarcadores discriminados por grupo de riesgo MIPI

		Total	Grupos de riesgo MIPI Núm. (%)			Valor p*
			Riesgo bajo	Riesgo intermedio	Riesgo alto	
CD20	Positivo	38	15 (100)	10 (100)	13 (100)	0.503
CD10	Positivo	35	0	0	1 (10)	0.571
	Negativo		15 (100)	10 (100)	9 (90)	
CD23	Negativo	30	12 (100)	8 (88.9)	8 (88.9)	
	Débil		0 (0)	1 (11.1)	1 (11.1)	
CD200	Negativo	21	4 (100)	5 (83.3)	11 (100)	0.476
	Débil		0	1 (16.7)	0	
CD5	Positivo	34	8 (61.5)	5 (50)	7 (63.6)	0.944
	Negativo		2 (15.4)	1 (10)	1 (9.1)	
	Débil		3 (23.1)	4 (40)	3 (27.3)	
CCND1	Positivo	38	14 (93.3)	8 (80)	11 (84.6)	0.843
	Negativo		1 (6.7)	1 (10)	1 (7.7)	
	Débil		0	1 (10)	1 (7.7)	
SOX11	Positivo	34	11 (91.7)	9 (100)	12 (92.3)	1.000
	Negativo		1 (8.3)	0	1 (7.7)	
Ki-67 (%)	<30%	26	6 (50)	4 (66.7)	4 (50)	0.778
	>30%		6 (50)	2 (33.3)	4 (50)	

\* Prueba exacta de Fisher.

**Cuadro 5.** Asociación entre variables cualitativas y riesgo MIPI

	Total	Grupo de riesgo MIPI Núm.			Valor p*
		Riesgo bajo	Riesgo intermedio	Riesgo alto	
<b>Sexo</b>	38				
Masculino		10	8	9	0.817
Femenino		5	2	4	
<b>Órgano primario infiltrado</b>	38				
Ganglio linfático		9	5	7	0.766
Médula ósea		3	4	5	
Otros		3	1	1	
<b>Infiltración a la médula ósea</b>	29				
Presencia		6	8	12	<b>0.038</b>
Ausencia		3	0	0	
<b>Infiltración al sistema nervioso central</b>	11				
Presencia		0	0	2	0.073
Ausencia		6	2	1	
<b>ECOG</b>	38				
0-1		15	10	5	<b>&lt; 0.001</b>
2-4		0	0	8	
<b>Subtipo citológico</b>	32				
Clásico		11	6	6	0.082
Blastoide		0	3	4	
Pleomórfico		1	0	1	
<b>Tipo de infiltración</b>	14				
Difusa		1	0	2	0.175
Nodular		0	2	2	
Tipo manto		0	0	0	
Mixta		4	0	3	
<b>Leucemización</b>	38				
Sí		1	1	7 (53.8)	<b>0.009</b>
No		14	9	6 (46.2)	
<b>Estado final de paciente</b>	33				
Vivo		15	7	9 (81.8)	0.144
Muerto		0	0	2 (18.2)	

\* Prueba exacta de Fisher.

de los pacientes en riesgo bajo e intermedio no mostraron leucemización, mientras que el 53.8% de los pacientes en riesgo alto sí.

Los pacientes clasificados en el grupo de riesgo alto mostraron aumento en variables como leucocitos, linfocitos, LDH, porcentajes de células

atípicas en ESP, porcentaje de infiltración a la médula ósea y disminución de la hemoglobina, mostrando asociaciones estadísticamente significativas. **Cuadro 6**

Al aplicar la prueba *post hoc* de Bonferroni, se observó que la edad fue significativamente

**Cuadro 6.** Asociación del MIPI con variables cuantitativas

	Grupo de riesgo MIPI - mediana (rango intercuartílico) - media $\pm$ desviación estándar			Valor p
	Riesgo bajo	Riesgo intermedio	Riesgo alto	
Leucocitos (mm <sup>3</sup> )	6110 (5330-9090)	7790 (6230-9460)	19,500 (10,500-27,340)	<b>&lt; 0.001<sup>a</sup></b>
Linfocitos (mm <sup>3</sup> )	1700 (1550-2219)	1995 (1200-3660)	7550 (2730-18,910)	<b>0.016<sup>a</sup></b>
Células atípicas en extendido de sangre periférica (%)	0	0	2 (0-33)	<b>0.010<sup>a</sup></b>
Edad	55 $\pm$ 10	66 $\pm$ 10	65 $\pm$ 6	<b>0.003<sup>b</sup></b>
B2M (mg/L)	4.21 (2.71-4.60)	6.01 (2.53-9.48)	5.40 (2.59-10.18)	0.707 <sup>a</sup>
LDH (U/L)	192 (155-211)	215 (198-245)	295 (257-333)	<b>0.001<sup>a</sup></b>
Infiltración a la médula ósea (%)	1.30 (0.38-2.16)	4.80 (2.88-15.70)	17.62 (8.60-65.10)	<b>0.022<sup>a</sup></b>
Hemoglobina (g/dL)	13 $\pm$ 2	13 $\pm$ 3	10 $\pm$ 2	<b>0.001<sup>b</sup></b>
Plaquetas (mm <sup>3</sup> )	262,000 (186,000-457,000)	150,000 (125,000-215,000)	202,000 (151,200-316,000)	0.086 <sup>a</sup>
Ki-67 (%)	33 $\pm$ 21	38 $\pm$ 21	51 $\pm$ 37	0.322 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Prueba de Kruskal Wallis. <sup>b</sup> Prueba de Bonferroni. <sup>c</sup> Prueba de ANOVA.

diferente al comparar el grupo de riesgo bajo con el intermedio y alto, sin evidenciarse discrepancias entre el grupo de riesgo intermedio y alto ( $p = 0.003$ ). En cuanto a la hemoglobina, hubo diferencias estadísticamente significativas al comparar el grupo de riesgo alto con el bajo e intermedio, pero no entre el bajo y el intermedio ( $p = 0.001$ ).

El recuento de leucocitos, la edad, el LDH y el estado ECOG mostraron una asociación fuerte con el MIPI debido a que son las variables que lo conforman; por tanto, aunque se incluyeron para permitir realizar la descripción de la población y confirmar su aumento en el grupo de riesgo alto, éstas no se incluyeron en el análisis multivariado.

Para realizar el análisis multivariado se incluyeron los linfocitos, la hemoglobina y el porcentaje de células atípicas en extendido de sangre periférica. El modelo se ajustó significativamente ( $p < 0.001$ ) y al evaluar las estimaciones de los parámetros se observó que esa asociación

solo se mantuvo con la hemoglobina en el riesgo alto frente al riesgo bajo (IC95% 0.562-0.939), estableciendo que por cada unidad de hemoglobina (g/dL) que aumente en el paciente, hay menos probabilidades de que éste pertenezca al riesgo alto comparado con el riesgo bajo.

La hemoglobina explicó el modelo en un 60.5% clasificando correctamente a los pacientes teniendo en cuenta lo observado frente a lo pronosticado; las otras variables perdieron su asociación con el modelo debido a que arrojaron un valor  $p > 0.05$  y el intervalo de confianza contenía el 1. En este modelo no se incluyó el porcentaje de infiltración a la médula ósea, ya que no hubo un número representativo de comparación entre los grupos, lo que afectó la validez del ajuste del modelo.

## DISCUSIÓN

El linfoma de células del manto es de las neoplasias de células B de peor pronóstico, con un curso clínico variable, corta supervivencia y alta

probabilidad de recaída;<sup>1,14</sup> aunque su supervivencia ha aumentado en los últimos años gracias a los nuevos enfoques terapéuticos, el linfoma de células del manto sigue siendo una enfermedad incurable.<sup>32</sup> En Colombia no existen datos concretos de la incidencia de esta neoplasia; sin embargo, se ha reportado que corresponde al 3.1% de los linfomas no Hodgkin.<sup>8</sup>

En este estudio se encontró que el linfoma de células del manto fue más frecuente en hombres (2.3:1), con una proporción similar a la de otros estudios;<sup>33</sup> sin embargo, al realizar la distribución entre los grupos de riesgo no se observaron diferencias, mostrando que no hay una tendencia entre éste y la agresividad de la enfermedad.<sup>20</sup> La edad media fue de  $65 \pm 11$  años,<sup>34,35</sup> lo que confirma que esta neoplasia afecta predominantemente a personas en la séptima década de la vida.<sup>1,25</sup>

Al evaluar los órganos infiltrados en los cuales se estableció el diagnóstico, se encontró una distribución similar a lo reportado por He y colaboradores,<sup>36</sup> donde las infiltraciones extranodales a la médula ósea y el tubo digestivo fueron las más comunes.

En una publicación realizada en 2019 que describió 54 pacientes, no se encontró asociación entre el sitio de diagnóstico y la mortalidad;<sup>37</sup> en este estudio no hubo asociación entre el órgano infiltrado y la clasificación del MIPI. Sin embargo, la afectación extranodal se describe como un factor de riesgo importante;<sup>37</sup> este estudio mostró asociación con el MIPI cuando hubo infiltración a la médula ósea, ésta estuvo presente en el 64% de los pacientes como afectación inicial o secundaria, datos que concuerdan con lo reportado en otros estudios colombianos (73.6<sup>34</sup> y 79%<sup>38</sup>). Estos altos porcentajes pueden deberse al momento en que se establece el diagnóstico; ya que, de acuerdo con el comportamiento de la enfermedad, generalmente se diagnostica en estadios avanzados.<sup>34</sup>

La afectación leucémica incorpora un grado de linfocitosis con características morfológicas e inmunofenotípicas atípicas de las células en sangre periférica.<sup>39</sup> La leucemización estuvo presente en el 22%, cifra poco menor a lo reportado por otro estudio colombiano en el que la incidencia fue del 42%.<sup>34</sup> La mayoría de los pacientes con células atípicas en el extendido de sangre periférica se clasificaron en riesgo alto, mostrando asociación significativa. Sin embargo, se ha reportado que las características clínicas de la población sin leucemización del linfoma son muy similares frente a los pacientes que sí la muestran, difiriendo solo en la edad.<sup>34</sup>

La variante morfológica más común fue la clásica (54%), seguida de la blastoide (22%) y en menor proporción la pleomórfica (10%), datos que difieren con un estudio realizado por Tiemann y colaboradores,<sup>40</sup> en el que la morfología clásica estuvo presente en el 87.5% de los casos, seguida de la pleomórfica con un 5.9% y la blastoide con solo el 2.6%. Aunque los porcentajes difieren, se conserva la variante clásica como la más frecuente.<sup>1</sup>

La transformación a la variante blastoide y pleomórfica ocurre por mutaciones adicionales principalmente en *TP53* y éstas afectan negativamente el pronóstico.<sup>17</sup> En un estudio realizado por Vogt y colaboradores,<sup>41</sup> con un tamaño de muestra similar, se encontró que el 22% de los pacientes con citología clásica podían transformarse a blastoide durante el progreso de la enfermedad y el 50% de los casos con citología blastoide tenían recaída con morfología clásica.

En este estudio no se encontró asociación entre morfología y MIPI. Jain y su grupo<sup>42</sup> describieron una supervivencia de 33 meses para la variante blastoide, asociándolo también con la edad, un *Ki-67* > 50% y un estado funcional deficiente; sugiriendo una heterogeneidad clínica y genómica significativa en estos pacientes. Aunque esta variable puede revelar información frente

al pronóstico, su valor clínico se conserva de manera independiente al MIPI, lo cual explicaría dicha falta de asociación.

El patrón de infiltración más frecuente fue el mixto (14%) y entre éstos la difusa-nodular fue la más común, seguida de la infiltración nodular, la difusa y en menor porcentaje el tipo manto; información similar a lo reportado por Tiemann y colaboradores<sup>40</sup> quienes, además, encontraron relación del crecimiento nodular con un pronóstico más favorable para los pacientes en comparación con la difusa. Hoster y colaboradores<sup>30</sup> relacionaron la infiltración difusa con una supervivencia ligeramente más corta. En 33 de los 50 pacientes estudiados no fue posible obtener esta información, debido al tipo de muestra, la calidad de fijación o coloración de la placa.

Al evaluar la infiltración al sistema nervioso central, no se encontró una tendencia de esta variable con el MIPI posiblemente por los pocos pacientes a los cuales fue realizado este examen; sin embargo, esta infiltración es clínicamente importante. Los dos pacientes con infiltración al sistema nervioso central tenían como común denominador concentraciones de LDH elevadas, ECOG 2, anemia y MIPI alto, esto concuerda con otros estudios en los que se han encontrado, además, asociaciones con citología blastoide.<sup>23,43</sup> Actualmente este examen no forma parte del panel principal de diagnóstico del linfoma de células del manto debido a que su afectación inicial es baja aumentando con las recaídas, su incidencia es del 4.1% durante el curso de la enfermedad y del 0.9% al momento del diagnóstico.<sup>43</sup> Los pacientes con esta complicación tienen supervivencia reportada de 4.8 meses.<sup>23</sup>

Diferentes biomarcadores se han relacionado con el pronóstico del linfoma de células del manto; en este estudio la leucocitosis, la linfocitosis, la anemia y valores elevados de LDH tienden a aumentar en el grupo de alto riesgo, mientras que la trombocitopenia conservó la media muy

similar en los tres grupos.<sup>20</sup> Sin embargo, en otro estudio se encontró que las concentraciones bajas de hemoglobina, los valores altos de LDH y menor recuento de plaquetas se asocia significativamente con mayor riesgo de muerte.<sup>42</sup>

El aumento y asociación de los linfocitos con el grupo de riesgo alto puede explicarse por la fisiopatología de la enfermedad, ya que el linfoma de células del manto afecta los linfocitos B incrementando su proliferación,<sup>6</sup> esto conlleva, a su vez, al aumento de leucocitos, llevando al desplazamiento de las otras líneas celulares, explicando la anemia y trombocitopenia en algunos casos.

La B2M al momento del diagnóstico tuvo una mediana por encima de lo reportado en otro estudio (2.7 mg/L); aunque no hubo asociación de éste con el MIPI, la B2M se ha asociado con etapas avanzadas de la enfermedad.<sup>20,44</sup> La relevancia pronóstica de este biomarcador aún requiere validaciones adicionales. No obstante, se ha reportado una supervivencia de 30.22 meses cuando está normal y de 17.6 cuando está aumentada.<sup>21</sup>

El estado funcional de 0-1 mostró predominio en los grupos de riesgo bajo e intermedio y el 100% de los ECOG 2-4 pertenecían al riesgo alto. Estos resultados muestran que el aumento del ECOG tiende a hallarse en pacientes con peor pronóstico. En otro estudio se determinó una supervivencia media de 27.9 *versus* 18.4 meses, respectivamente.<sup>21</sup>

El *Ki-67* se ha relacionado en diferentes reportes con la capacidad de predecir el pronóstico, utilizándose actualmente como único marcador independiente del MIPI en la práctica clínica.<sup>20,27,30</sup> No fue posible obtener el *Ki-67* en todos los pacientes, puesto que 18 de los 50 tenían infiltración de la médula ósea como órgano primario de afectación y esta muestra no es idónea para evaluar dicho marcador. La media de *Ki-67*



encontrada fue del 43%, cifra superior a la reportada en otro estudio colombiano (26%), en el que reportaron que la mediana de supervivencia de los pacientes con *Ki-67* mayor o menor de 30% fue de 32.9 y 38.6 meses, respectivamente, sin mostrar valores estadísticamente significativos.<sup>34</sup> Recientemente se demostró que *p53* y *Ki-67* mayor del 30% y morfología blastoide pueden definir un alto riesgo con supervivencia más corta.<sup>45,46,47</sup>

En cuanto al estado final, de los cuatro pacientes que fallecieron, dos estaban clasificados en riesgo alto. Aunque dos de los pacientes tuvieron como causa de muerte la enfermedad por COVID-19, es innegable el papel predisponente que jugó el linfoma de células del manto en el desenlace de dichos pacientes. La supervivencia reportada de estos pacientes es de 3 a 5 años,<sup>1</sup> con mediana de supervivencia libre de evento de 16 meses según el Instituto Nacional de Cancerología.<sup>34</sup>

El panel inmunofenotipo más común fue: CD20(+), CD23(-), CD200(-), CD5(+), CD10(-), *CCND1*(+) y *SOX11*(+), lo que concuerda con lo descrito por la OMS.<sup>1</sup> Entre los marcadores aberrantes, se observó un paciente CD5(-) con morfología pleomórfica, dos pacientes CD10(+) con morfología blastoide y uno con CD23(+) y CD200 débil también con morfología blastoide, lo que sugiere asociación entre la morfología blastoide y la existencia de marcadores aberrantes.<sup>48</sup> Asimismo, algunos pacientes fueron ciclina D1 negativo; sin embargo, respaldado su diagnóstico con *SOX11*(+), ya que se han reportado casos de linfoma de células del manto negativos para *CCND1* que expresan *CCND2* o *CCND3*.<sup>49</sup> Otro pequeño porcentaje de pacientes mostró positividad débil, esto puede explicarse por problemas en la preservación antigénica por el descalcificador.

El CD5 fue negativo en el 8% de los casos y tuvo expresión débil en el 20%; la inexpressión

o baja expresión de este marcador se relaciona con mejor supervivencia, aunque las características clínico-patológicas son similares a la de los pacientes CD5(+).<sup>50</sup> Por otro lado, aunque CD10(+) se considera marcador aberrante para esta neoplasia, no se han encontrado diferencias significativas en las características clínico-patológicas o implicaciones de pronóstico frente a los CD10(-).<sup>51</sup>

El MIPI, aunque es una herramienta de pronóstico que ayuda a la toma de decisiones sobre el tratamiento adaptado al riesgo de pacientes con estadios avanzados de la enfermedad, a veces se dificulta la correcta discriminación entre el grupo de bajo riesgo y el intermedio.<sup>20,52</sup>

Al realizar el análisis multivariado se conservó la asociación de la hemoglobina, siendo menor en el grupo de alto riesgo frente al bajo. Hu y colaboradores<sup>53</sup> encontraron asociación de supervivencia general con edad, *Ki-67*, síntomas B, infiltración a la médula ósea, recuento de plaquetas, LDH, B2MG y MIPI, conservándose dicha asociación en el análisis multivariado con la edad, síntomas B, B2MG y *Ki-67*, funcionando como factores independientes de la supervivencia general.

## CONCLUSIONES

Es importante continuar en la búsqueda de variables clínicas que ayuden a predecir el pronóstico de estos pacientes, permitiendo tener una atención más personalizada e independiente, la cual se verá reflejada en la correcta elección del tratamiento y, por ende, en la supervivencia. Actualmente la morfología, *Ki-67* y deleciones o mutaciones *TP53* juegan un papel importante en la determinación del pronóstico, por lo que se recomienda que sean evaluadas al momento del diagnóstico.<sup>47</sup>

Este estudio nos ofrece la caracterización de algunos factores diagnósticos del linfoma de células

del manto; además, muestra exploraciones de pronóstico frente al MIPI, permitiendo evaluar asociaciones o tendencias, pero no afirmaciones sobre la causalidad. Después de obtener este abordaje sobre pacientes con linfoma de células del manto en población colombiana, se hace interesante ampliar el panorama, planteando futuros estudios que permitan conocer la supervivencia actual en Colombia, la respuesta a los tratamientos actuales y realizar seguimiento identificando cuáles de estas variables muestran modificaciones durante el curso de la enfermedad.

### Limitaciones

Algunas exploraciones de pronóstico se vieron afectadas por el tamaño muestral, ya que algunos de los exámenes de laboratorio incluidos en este estudio no se habían realizado en todos los pacientes o no se tenía acceso a la información.

### REFERENCIAS

- Jaffe ES, Campo E, Harris NL, et al. Introduction and overview of the classification of lymphoid neoplasms. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th ed. International Agency for Research on Cancer, Lyon France, 2017; 190-98.
- Mugnaini E, Ghosh N. Lymphoma. *Prim Care* 2016; 43 (4): 661-73. doi: 10.1016/j.pop.2016.07.012.
- Centers for Disease Control and Prevention. United States Cancer Statistics: Data Visualizations. 2019. <https://gis.cdc.gov/Cancer/USCS/#/AtAGlance/>.
- GLOBOCAN 2020. World Health Organization (WHO). <https://gco.iarc.fr/today/>.
- Fondo Colombiano de Enfermedades de Alto Costo. Situación del cáncer en la población adulta atendida en el SGSSS de Colombia 2021. Cuenta de Alto Costo. 2022.
- Swerdlow S, Campo E, Seto M, Muller-Hermelink HK. Mantle cell lymphoma. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th ed. International Agency for Research on Cancer, Lyon France, 2017; 285-90.
- Rule S, Johns S. Advances in classification and treatment of non-Hodgkin lymphoma: Mantle cell. *Cancer J* 2020; 26 (4): 348-56. doi: 10.1097/PPO.0000000000000462.
- García Ramírez CA, Uribe Pérez CJ, Marina P, Vargas N, Sebastián D, Radi S, et al. Linfomas no Hodgkin: Área metropolitana de Bucaramanga. *Revista de la Universidad Industrial de Santander* 2011; 43 (1): 39-47.
- Chihara D, Nastoupil LJ, Williams JN, Lee P, Koff JL, Flowers CR. New insights into the epidemiology of non-Hodgkin lymphoma and implications for therapy. *Expert Rev Anticancer Ther* 2015; 15 (5): 531-44. doi: 10.1586/14737140.2015.1023712.
- Thandra K, Barsouk A, Saginala K, Padala S, Barsouk A, Rawla P. Epidemiology of Non-Hodgkin's Lymphoma. *Med Sci (Basel)* 2021; 9 (1): 267-75. doi: 10.3390/medsci9010005.
- Smedby KE, Sampson JN, Turner JJ, Slager SL, Maynadié M, Roman E, et al. Medical history, lifestyle, family history, and occupational risk factors for mantle cell lymphoma: The InterLymph Non-Hodgkin Lymphoma Subtypes Project. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2014; 2014 (48): 76-86. doi: 10.1093/jncimonographs/lgu007.
- McKinney M and Dave S. Origins of non-Hodgkin lymphomas. In: Hoffman R, Benz E, Silberstein L, et al, editor. *Hematology: Basic Principles and Practice*. 7th ed. Philadelphia: Elsevier; 2018: 1230-243.
- Cortelazzo S, Ponzoni M, Ferreri AJM, Dreyling M. Mantle cell lymphoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2020; 153. doi: 10.1016/j.critrevonc.2020.103038.
- Hill HA, Qi X, Jain P, Nomie K, Wang Y, Zhou S, et al. Genetic mutations and features of mantle cell lymphoma: a systematic review and meta-analysis. *Blood Adv* 2020; 4 (13): 2927-38. doi:10.1182/bloodadvances.2019001350.
- Silkenstedt E, Linton K, Dreyling M. Mantle cell lymphoma – advances in molecular biology, prognostication and treatment approaches. *Br J Haematol* 2021; 195 (2): 162-73. doi: 10.1111/bjh.17419.
- Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, Attygalle AD, Araujo IB de O, Berti E, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia*. Springer Nature; 2022; 36: 1720-48.
- Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Lee Harris N, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* 2016; 127 (20): 2375. doi.org/10.1182/blood-2016-01-643569.
- Pinilla M and Moreno S. Neoplasia folicular in situ y neoplasia de células del manto in situ: incidencia y significado clínico. Tesis doctoral. España. 2017.
- Lee W, Shin E, Kim BH, Kim H. Diagnostic accuracy of SOX11 immunohistochemistry in mantle cell lymphoma: A meta-analysis. *PLoS One* 2019; 14 (11). doi: 10.1371/journal.pone.0225096.
- Hoster E, Dreyling M, Klapper W, Gisselbrecht C, van Hoof A, Kluin-Nelemans HC, et al. A new prognostic index (MIPI) for patients with advanced-stage mantle cell lymphoma. *Blood* 2008; 111 (2): 558-65. doi: 10.1182/blood-2007-06-095331.
- Acevedo C. Características clínico-patológicas y su implicancia en la sobrevida de pacientes con linfoma de células del manto. Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas, 2002-2012. 2015.

22. Balagué O, Colomo L, Campo E. Linfoma de células del manto. *Patol* 2004; 37: 159-72.
23. Ferrer A, Bosch F, Villamor N, Rozman M, Graus F, Gutiérrez G, et al. Central nervous system involvement in mantle cell lymphoma. *Ann Oncol* 2008; 19 (1): 135-41. doi: 10.1093/annonc/mdm447.
24. Vose JM. Mantle cell lymphoma: 2017 update on diagnosis, risk-stratification, and clinical management. *Am J Hematol* 2017; 92 (8): 806-13. doi: 10.1002/ajh.24797.
25. Campo E and Jares P. Mantle Cell Lymphoma. In: Jaffe E, Arber E, Campo E, et al. editor. *Hematopathology*. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: Elsevier; 2017: 397-414.
26. Schlüter C, Duchrow M, Wohlenberg C, Becker MH, et al. The cell proliferation-associated antigen of antibody Ki-67: a very large, ubiquitous nuclear protein with numerous repeated elements, representing a new kind of cell cycle-maintaining proteins. *J Cell Biol* 1993; 123 (3): 513-522. doi:10.1083/jcb.123.3.513
27. He X, Chen Z, Fu T, Jin X, Yu T, Liang Y, et al. Ki-67 is a valuable prognostic predictor of lymphoma but its utility varies in lymphoma subtypes: evidence from a systematic meta-analysis. *BMC Cancer* 2014; 14: 153. doi: 10.1186/1471-2407-14-153.
28. Aqil B, Triska G, Frater J, Hassan A, Ruzinova MB, Cashen A, et al. Immunophenotypic variations in mantle cell lymphoma and their impact on clinical behavior and outcome. *Arch Pathol Lab Med* 2018; 142 (10): 1268-74. doi: 10.5858/arpa.2017-0368-OA.
29. Hu Z, Sun Y, Schlette EJ, Tang G, Li S, Xu J, et al. CD200 expression in mantle cell lymphoma identifies a unique subgroup of patients with frequent IGHV mutations, absence of SOX11 expression, and an indolent clinical course. *Mod Pathol* 2018; 31 (2): 327-36. doi: 10.1038/modpathol.2017.135.
30. Hoster E, Rosenwald A, Berger F, Bernd HW, Hartmann S, Lodenkemper C, 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 (12): 1386-94. doi: 10.1200/JCO.2015.63.8387.
31. Pérez-Cruz PE, Acevedo F. Escalas de estado funcional (o performance status) en cáncer. *Gastroenterol Latinoam* 2014; 25 (3): 219-26.
32. Okay M, Meletli O, Kelkitli E, Malkan UY, Turgut M, Buyukasik Y, et al. Mantle cell lymphoma: a Turkish Multi-Center Study. *J BUON* 2019; 24 (5): 2084-2089.
33. Zhou P, Shi Y, He X, Zhou S, Liu P, Dong M, et al. [Clinical features and prognostic analysis of mantle cell lymphoma patients]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 2014; 36 (12): 928-32.
34. Enciso LJ, Suarez ML, Arango M. Resultados del tratamiento del linfoma de células del manto con varios regimenes de inmunoterapia: estudio retrospectivo. *Revista Colombiana de Cancerología. Instituto Nacional de Cancerología ESE*; 2015; 19: 71-80.
35. Jo JC, Kim SJ, Lee HS, Eom HS, Lee SI, Park Y, et al. Clinical features and treatment outcomes of limited-stage mantle cell lymphoma: Consortium for Improving Survival of Lymphoma report. *Ann Hematol* 2020; 99 (2): 223-228. doi: 10.1007/s00277-019-03803-x.
36. He JS, Chen X, Wei GQ, Sun J, et al. Simplified MIPI-B prognostic stratification method can predict the outcome well-retrospective analysis of clinical characteristics and management of newly-diagnosed mantle cell lymphoma patients from China. *Medicine (Baltimore)* 2019; 98 (1): e13741. doi:10.1097/MD.00000000000013741.
37. Mehmet Ali U, Simten D, Murat A, Osman S, Funda C, Mesude F, et al. Prognostic significance of MIPI and MIPI-B scoring systems for mantle cell lymphoma in the Turkish population. *Clin Hematol Res* 2019; 2 (1). doi: 10.36959/831/379.
38. Rojas G. Descripción clínica patológica y expresión del inmunomarcador SOX11 en pacientes con linfoma del manto. Universidad Nacional de Colombia. 2012.
39. Caballero D, Campo E, López-Guillermo A, Martín A, Arranz-Sáez R, Giné E, et al. Clinical practice guidelines for diagnosis, treatment, and follow-up of patients with mantle cell lymphoma. Recommendations from the GEL/TAMO Spanish Cooperative Group. *Ann Hematol* 2013; 92 (9): 1151-79. doi: 10.1007/s00277-013-1783-4.
40. Tiemann M, Schrader C, Klapper W, Dreyling MH, Campo E, Norton A, et al. Histopathology, cell proliferation indices and clinical outcome in 304 patients with mantle cell lymphoma (MCL): a clinicopathological study from the European MCL Network. *Br J Haematol* 2005; 131: 29-38. doi: 10.1111/j.1365-2141.2005.05716.x.
41. Vogt N, Klapper W. Variability in morphology and cell proliferation in sequential biopsies of mantle cell lymphoma at diagnosis and relapse: clinical correlation and insights into disease progression. *Histopathology* 2013; 62 (2): 334-42. doi: 10.1111/his.12009. PMID: 23240716.
42. Jain P, Zhang S, Shamanna R, Ok CY, Nomie K, Gonzalez GN, et al. Genomic profiles and clinical outcomes of de novo blastoid/pleomorphic MCL are distinct from those of transformed MCL. *Blood Adv* 2020; 4 (6): 1038-1050. doi: 10.1182/bloodadvances.
43. Cheah CY, George A, Giné E, Chiappella A, Nelemans HC, Jurczak W, et al. Central nervous system involvement in mantle cell lymphoma: clinical features, prognostic factors and outcomes from the European Mantle Cell Lymphoma Network. *Ann Oncol* 2013; 8: 2119-23. doi: 10.1093/annonc/mdt139.
44. Yoo C, Yoon DH, Kim S, Huh J, Park CS, Park CJ, et al. Serum beta-2 microglobulin as a prognostic biomarker in patients with mantle cell lymphoma. *Hematol Oncol* 2016; 34 (1): 22-7. doi: 10.1002/hon.2188.
45. Dreyling M, Hoster E, Unterhalt M, Rosenwald A, Kluijn-Nelemans H, Hermine O, et al. Clinical outcome of mantle cell lymphoma patients with high risk biology (high Ki-67, blastic MCL, or high p53 expression). *Blood* 2019; 134 (1): 3996. doi:org/10.1182/blood-2019-130068.

46. Silkenstedt E, Linton K, Dreyling M. Mantle cell lymphoma - advances in molecular biology, prognostication and treatment approaches. *Br J Haematol* 2021; 195 (2): 162-173. doi: 10.1111/bjh.17419.
47. Campo E, Jaffe E, Cook J, Quintanilla L, Swerdlow S, Anderson K, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: A report from the Clinical Advisory Committee. *Blood* 2022; 140 (11): 1229-1253. doi/10.1182/blood.2022015851.
48. Mishra P, Padhi S, Ayyanar P, Samal S, Majumdar S, Panigrahi A, et al. Clinicopathological and immunohistochemical profile of mantle cell lymphoma: An institutional experience. *Cureus* 2021; 13 (7): e16534. doi: 10.7759/cureus.16534.
49. Garcia M, Navarro A, Mas R, Clot G, Abril J, Prieto M, et al. CCND2 and CCND3 hijack immunoglobulin light-chain enhancers in cyclin D1- mantle cell lymphoma. *Blood* 2019; 133 (9): 940-951. doi: 10.1182/blood-2018-07-862151.
50. Miao Y, Lin P, Saksena A, Xu J, Wang M, Romaguera J, et al. CD5-negative mantle cell lymphoma: Clinicopathologic correlations and outcome in 58 patients. *Am J Surg Pathol* 2019; 43 (8): 1052-1060. doi: 10.1097/PAS.0000000000001278.
51. Akhter A, Mahe E, Street L, Pournazari P, Perizzolo M, Rad M, et al. CD10-positive mantle cell lymphoma: biologically distinct entity or an aberrant immunophenotype? Insight, through gene expression profile in a unique case series. *J Clin Pathol* 2015; 68 (10): 844-8. doi: 10.1136/jclinpath-2015-202955.
52. Aukema SM, Hoster E, Rosenwald A, Canoni D, Delfau-Larue MH, Rymkiewicz G, et al. Expression of TP53 is associated with the outcome of MCL independent of MIPI and Ki-67 in trials of the European MCL Network. *Blood* 2018; 131 (4): 417-20. doi: 10.1182/blood-2017-07-797019.
53. Hu MW, Lou YJ, Yang M, Wang HF, Wang L, Jin J. [Clinical analysis of 140 cases of mantle cell lymphoma]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 2018; 40 (5): 390-395. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2018.05.013.

doi.org/10.24245/rev\_hematol.v24i3.9165

## Approach of COVID-19 induced coagulopathy, from literature to the clinical practice.

### Coagulopatía inducida por COVID-19, de la bibliografía a la práctica clínica

Bruno Samaniego Segovia,<sup>1</sup> César Alejandro Rodríguez Salinas,<sup>1</sup> Arnulfo González Cantú,<sup>2</sup> Jorge Luis Montemayor Montoya,<sup>3</sup> Diego Jaime Villalón,<sup>4</sup> Cosette De la Mora<sup>5</sup>

#### Abstract

**OBJECTIVE:** To determine the clinical practice of the intentional search of COVID-19 induced coagulopathy at hospital admission and describe its incidence, thrombosis rates and mortality.

**MATERIALS AND METHODS:** A retrospective cohort study of adult patients with COVID-19 that required hospitalization was made from April 2020 to May 2021 in a Mexican private hospital. COVID-19 induced coagulopathy diagnosis was established if two of these criteria were met: D-dimer above 1 µg/mL, platelet count below 150 K/µL and international normalized ratio (INR) of 1.2 or higher. The population was divided according to therapy: thromboprophylaxis, anticoagulation vs not-to-treat. General characteristics, mortality, length of stay, and thrombosis rates were described for each group.

**RESULTS:** For a total of 532 patients, 116 were evaluable for COVID-19 induced coagulopathy at hospital admission; the diagnosis was confirmed in 34 of them (29.3%). The thrombosis rates and mortality were 17.6% and 32.3%, respectively. Those who received anticoagulation presented with more severe clinical and biochemical characteristics, hence the length of stay and thrombosis rates were higher in them.

**CONCLUSIONS:** The diagnosis of COVID-19 induced coagulopathy reached 29.3% in the evaluable population. Its search is close to 21.8% of the patients admitted.

**KEYWORDS:** Coagulopathy; COVID-19; Thrombosis; Anticoagulation.

#### Resumen

**OBJETIVO:** Determinar la práctica clínica de la búsqueda intencional de coagulopatía inducida por COVID-19 al ingreso hospitalario y describir su incidencia, tasas de trombosis y mortalidad.

**MATERIALES Y MÉTODOS:** Estudio de cohorte retrospectivo de pacientes adultos con COVID-19 que requirieron hospitalización, efectuado de abril de 2020 a mayo de 2021 en un hospital privado mexicano. El diagnóstico de coagulopatía inducida por COVID-19 se estableció si se cumplían dos de estos criterios: dímero D superior a 1 µg/mL, recuento de plaquetas inferior a 150 K/µL e índice internacional normalizado (INR) de 1.2 o superior. La población se dividió según el tratamiento: tromboprofilaxis, anticoagulación *versus* sin tratamiento. Para cada grupo se describieron las características generales, la mortalidad, la duración de la estancia hospitalaria y las tasas de trombosis.

**RESULTADOS:** De un total de 532 pacientes, 116 fueron evaluables para coagulopatía inducida por COVID-19 al ingreso hospitalario; el diagnóstico se confirmó en 34 de ellos (29.3%). Las tasas de trombosis y mortalidad fueron del 17.6 y 32.3%, respectivamente. Los pacientes que recibieron anticoagulación mostraron características clínicas y bioquímicas más graves, de ahí que la estancia hospitalaria y las tasas de trombosis fueran mayores en ellos.

<sup>1</sup> Internal Medicine Resident

<sup>2</sup> Internal Medicine Physician. Clinical Endocrinologist.

<sup>3</sup> Internal Medicine Physician. Clinical Haematologist. Clinical Professor of the Internal Medicine Residency.

<sup>4</sup> Internal Medicine Physician. Clinical Infectious Disease Specialist.

<sup>5</sup> Medical Intern.

Christus Muguerza Health Systems, UDEM, Monterrey, Nuevo León, México.

**Received:** September 2023

**Accepted:** September 2023

#### Correspondence

César Alejandro Rodríguez Salinas  
drcesarrrdzsalinas@gmail.com

**This article must be quoted:** Samaniego-Segovia B, Rodríguez-Salinas CA, González-Cantú A, Montemayor-Montoya JL, Jaime-Villalón D, De la Mora C. Approach of COVID-19 induced coagulopathy, from literature to the clinical practice. Hematol Mex 2023; 24 (3): 128-135.

**CONCLUSIONES:** El diagnóstico de coagulopatía inducida por COVID-19 alcanzó el 29.3% en la población evaluable. Su búsqueda se acerca al 21.8% de los pacientes ingresados.

**PALABRAS CLAVE:** Coagulopatía; COVID-19; trombosis; anticoagulación.

## BACKGROUND

It has been more than two years from the time when the early COVID-19 cases were reported; ever since, its hematological characteristics have been identified as an important feature of the disease.<sup>1,2</sup> The wide clinical spectrum of the severe disease includes the development of acute respiratory distress syndrome (ARDS); acute myocardial, kidney, and liver injury; cardiac arrhythmias, acute heart failure, rhabdomyolysis and coagulopathy.<sup>3,4</sup> The latter being of interest because of its association with poor prognosis and thrombotic complications.<sup>5,6</sup> It is now known that the SARS-CoV-2 virus damage the vascular endothelium and the lung alveolar epithelial cells by its interaction with the angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2). This triggers an excessive immune response-induced cytokine storm, generating a local and systemic inflammatory response, that progress to an endotheliopathy and a hypercoagulability state, responsible for the macro- and micro-thrombosis manifestations.<sup>7,8</sup>

This complex mechanism between the SARS-CoV-2 virus, the endothelial cells, the inflammatory response, and the coagulation system explains the laboratory abnormalities such as: elevated D-dimer levels, thrombocytopenia, increased levels of fibrin degradation products and elevation of the activated partial thromboplastin

(aPTT) and prothrombin time (PT).<sup>9</sup> The presence of these alterations is known as COVID-19 induced coagulopathy (CIC).<sup>10</sup>

The diagnosis of CIC has gain significance because of its prognosis and therapeutic value.<sup>11</sup> It is established by the International Society on Thrombosis and Haemostasis that all patients with COVID-19 must be tested for coagulation markers at the time of diagnosis, guiding the decision for hospital admission on those with D-dimer markedly raised, prothrombin time prolonged, platelet count below  $100 \times 10^9/L$  and fibrinogen levels below 2 g/L. Also, they suggest that all patients who required hospital admission must be treated with low molecular weight heparin (LMWH) at thromboprophylaxis doses in the absence of any contraindications.<sup>12</sup> The American Society of Hematology agree with this suggestion an remark that there's no benefit using higher doses or anticoagulation.<sup>13</sup> Besides this data, there has been many clinical trials to determine whether thromboprophylaxis vs anticoagulation vs none-to-them is the most appropriate treatment.<sup>14</sup>

At our institution, some clinicians seek for the diagnosis of CIC at hospital admission and initiate early thromboprophylaxis and some prefers the intermediate-to-therapeutic full dose-anticoagulation. In this study, we describe the tendency by the clinical physicians regarding the

diagnosis and therapeutics of CIC in a third level hospital at the north of Mexico. The objective of this study is to determine the adherence to the established by the international guidelines and describe our population.

## MATERIALS AND METHODS

A single-center retrospective cohort study of adult patients diagnosed with COVID-19 that were admitted to our institution from April 2020 to May 2021. Those who required extracorporeal membrane oxygenation support during the hospital stay, were pregnant at admission or had incomplete medical file were excluded. The population was divided into three groups according to the therapy employed: early thromboprophylaxis, early full dose anticoagulation or none-to-them.

Sociodemographic, clinical, and biochemical characteristics were described for each group. The sociodemographic characteristics collected included gender, age, body mass index (BMI), and the following comorbidities: diabetes mellitus type 2, hypertension, coronary artery disease, atrial fibrillation, heart failure, end-stage kidney disease, liver disease, cancer, asthma, chronic obstructive disease, cerebrovascular disease, overweight, obesity, and current smoking status. The clinical characteristics at hospital admission included were days from illness onset, symptoms such as: dyspnea, respiratory distress, cough and fever; vital signs such as: heart rate, respiratory rate, systolic blood pressure, temperature, and oxygen saturation as determined by pulse oximetry. The biochemical characteristics gathered were hemoglobin, hematocrit, white blood cells, neutrophils absolute count, lymphocytes absolute count, platelets, glucose, creatinine, blood urea nitrogen (BUN), triglycerides, total cholesterol, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, lactic dehydrogenase, ferritin, c-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6), prothrombin time (PT), activated partial

thromboplastin time (aPTT), international normalized ratio (INR), d-dimer, fibrinogen, pro brain natriuretic peptide (ProBNP), creatine phosphokinase-MB (CPK-MB), myoglobin, and procalcitonin.

The primary outcome was to determine the intentional search of CIC at hospital admission by identifying the percentage of patients that had record of coagulation tests, complete blood count, and D-dimer levels at the first 24 hours of hospitalization in their clinical files to describe the level of adherence to the International Guidelines recommendations in the total population.<sup>12,13</sup> The incidence of CIC was determined in the population that had this laboratory set at hospital admission. The diagnosis of CIC was established if two of these criteria were met: D-dimer level above 1 µg/mL, platelet count below 150 K/µL and an International Normalized Ratio (INR) of 1.2 or higher. Mortality and thrombosis rate was determined on those with CIC diagnosed.

The diagnosis of thrombosis was determined by an existing Doppler vascular ultrasound and/or computed tomography angiography (CTA) compatible with the diagnosis of deep venous thrombosis, pulmonary thromboembolism, acute ischemic stroke, acute myocardial infarction or acute mesenteric ischemia reported in their clinical files.

Early thromboprophylaxis and full-dose anticoagulation was considered if the therapy was initiated in the first 24 hours of hospital stay. Those who received enoxaparin at doses of 0.5 mg/kg per day or 0.5 mg/kg twice a day, fondaparinux 2.5 mg per day, rivaroxaban 10 mg per day or apixaban 2.5 mg twice a day were included in the thromboprophylaxis group. In the full-dose anticoagulation were included those who received enoxaparin 1 mg/kg twice a day or higher, fondaparinux 5 mg per day or higher, rivaroxaban 15 mg twice a day or apixaban 5 mg

twice a day or higher. Those who did not had this medication on the first 24 hours of admission were included in the none-to-them group. We review all dosages individually considering each patient's weight and age to guarantee its correct categorization. For each group, mortality, length of stay and thrombosis rate were determined.

SPSS® Statistics software platform was used for all statistical analyses. Continuous variables were summarized as median and its interquartile range for the three groups. Categorical variables summarized as count and percentage. To compare the variables included between the three groups the Kruskal-Wallis test was used for continuous variables and  $\chi^2$  test was used for categorical variables.

## RESULTS

From April 2020 to May 2021 a total of 581 patients were admitted to the hospital with the diagnosis of COVID-19. We excluded 49 patients because they presented one of the following conditions: extracorporeal membrane oxygenation support during the hospital stay, pregnancy at admission, incomplete medical file or were younger than 18 years old. We included a total of 532 patients.

The search for CIC diagnosis at hospital admission were done in 116 patients (21.8%), with an incidence reported in 29.3% ( $n = 34$ ). The mortality was 32.3% ( $n = 11$ ) and thrombosis rate reached 17.6% ( $n = 6$ ) of those affected with CIC.

Male sex predominates in the total population (67.6%). The median age was 49 years (IQR 32-65). The most frequent comorbidities were overweight (44%), followed by obesity (40.1%), systemic arterial hypertension (27.8%), type 2 diabetes mellitus (21.6%) and current smoking status (12.4%).

The preferred therapy at admission were the use of early thromboprophylaxis in 410 patients

(77%) followed by neither thromboprophylaxis nor anticoagulation in 71 cases (13.3%), and full dose anticoagulation in 51 of the total population (9.5%). **Table 1** shows the prevalence of every clinical condition presented within each group of the population.

According to the clinical characteristics at hospital admission, the group that receive early thromboprophylaxis or anticoagulation had higher rates of severity conditions or symptoms (3), such as: more days of active disease before the hospital admission ( $p < 0.001$ ), dyspnea ( $p < 0.001$ ), and higher grade of hypoxemia ( $p < 0.001$ ). The clinical characteristics are reported for each group in **Table 2**.

The statistically significant difference was present in the serum levels of lactic dehydrogenase (LDH) and C-reactive protein (CRP), both were higher in the early thromboprophylaxis and anticoagulation groups ( $p = 0.011$  and  $p = 0.005$ , respectively). No statistically significant difference was reported in the coagulation parameters. The biochemical characteristics for each group are shown in **Table 3**.

Those who received full-dose anticoagulation had longer lengths of stay with a median of 10 days (IQR 6-19). The thrombosis rate was higher in this group with an incidence of 11.8% ( $n = 6$ ). There was no difference in mortality. **Table 4** shows the difference for length of stay, thrombosis rate and mortality for each group.

## DISCUSSION

The level of adherence to the recommendations by the International Guidelines in the diagnosis of CIC at the time of hospital admission reaches 21.8% in our population. To establish the diagnosis, we used the biochemical definition by Toshiaki Iba et al.<sup>15</sup> Within this population, the incidence of CIC was reported in 29.3%, with a mortality of 32.3% and a thrombosis rate of



**Table 1.** Demographic characteristics of the cohort

Total (n = 532)	No treatment N = 71 (13.3%)	Thromboprophylaxis N = 410 (77%)	Therapeutic anticoagulation n = 51 (9.5%)	p value
Men	38 (53.5%)	282 (68.8%)	40 (78.4%)	<b>0.009</b>
Age	49 (32-65)	51 (41-63)	55 (46-64)	0.125
Body mass index	27.7 (24.8-31)	28.7 (26.4-32.6)	30.2 (27.5-34.6)	0.170
<b>Comorbidities</b>				
Type 2 diabetes	8 (11.3%)	91 (22.2%)	16 (31.4%)	<b>0.024</b>
Hypertension	22 (31%)	109 (26.6%)	17 (33.3%)	0.487
Coronary artery disease	9 (12.7%)	27 (6.6%)	4 (7.8%)	0.198
Atrial fibrillation	3 (4.2%)	8 (2%)	3 (5.9%)	0.170
Heart failure	1 (1.4%)	4 (1%)		0.720
End-stage kidney disease	6 (8.5%)	12 (2.9%)	3 (5.9%)	0.066
Liver disease	2 (2.8%)	3 (0.7%)		0.186
Cancer	3 (4.2%)	12 (2.9%)	2 (3.9%)	0.808
Asthma	2 (2.8%)	3 (0.7%)	1 (2%)	0.258
Chronic obstructive pulmonary disease		5 (1.2%)		0.472
Cerebrovascular disease	6 (8.5%)	10 (2.4%)	2 (3.9%)	<b>0.035</b>
Overweight	32 (45.1%)	187 (45.6%)	16 (31.4%)	0.153
Obesity	22 (31%)	168 (41%)	28 (54.9%)	<b>0.030</b>
Current smoking	6 (8.5%)	55 (13.4%)	5 (9.8%)	0.422

Values are median (Interquartile range) or n (%), unless otherwise indicated.

\*  $\chi^2$  test used for categorical variables. Kruskal-Wallis test used for continuous variables.

**Table 2.** Clinical characteristics at hospital admission

Total (n = 532)	No treatment N = 71 (13.3%)	Thromboprophylaxis N = 410 (77%)	Therapeutic anticoagulation n = 51 (9.5%)	p value
Days from illness onset	6 (2-10)	8 (7-10)	10 (7-13)	<b>&lt; 0.001</b>
Dyspnea	27 (38%)	302 (73.7%)	37 (72.5%)	<b>&lt; 0.001</b>
Respiratory distress	11 (15.5%)	76 (18.6%)	16 (31.4%)	0.063
Cough	35 (49.3%)	310 (75.6%)	39 (76.5%)	<b>&lt; 0.001</b>
Fever	33 (46.5%)	335 (81.7%)	38 (74.5%)	<b>&lt; 0.001</b>
Heart rate	86 (76-99)	95 (83-109)	93 (80-105)	<b>0.016</b>
Respiratory rate	20 (18-24)	23 (20-26)	23 (21-28)	<b>0.016</b>
Systolic blood pressure	122 (111-141)	128 (117-143)	130 (120-151)	0.780
Temperature	36.6 (36-37.4)	37.2 (36.7-38)	37.3 (36.6-37.7)	<b>&lt; 0.001</b>
Oxygen saturation	96 (92-98)	92 (88-95)	91 (85-94)	<b>&lt; 0.001</b>

Values are median (interquartile range), n (%), or n/N (%), unless otherwise indicated.

\*  $\chi^2$  test used for categorical variables. Kruskal-Wallis test used for continuous variables.

**Table 3.** Biochemical characteristics at hospital admission

Total (n = 532)	No treatment N = 71 (13.3%)	Thromboprophylaxis N = 410 (77%)	Therapeutic anticoagulation n = 51 (9.5%)	p value
Hemoglobin, g/L	13.6 (12.3-15.1)	14.3 (13.4-15.3)	14.1 (13.2-15.3)	0.167
Hematocrit, %	39.9 (36.2-44.5)	41.3 (38.8-44.1)	41.1(38.3-44.3)	0.497
White blood cells, x10 <sup>9</sup> /L	7.92 (6.04-11.01)	8.30 (5.88-11.42)	9.33 (6.18-12.73)	0.504
Neutrophils, x10 <sup>9</sup> /L	5.56 (4.16-8.69)	6.87 (4.26-9.73)	7.68 (4.48-11.29)	0.160
Lymphocytes, x10 <sup>9</sup> /L	1.17(0.81-1.62)	0.91 (0.65-1.17)	0.91 (0.66-1.29)	0.13
Platelet, x10 <sup>9</sup> /L	237 (178-294)	209 (166-272)	218 (174-278)	0.179
Glucose, mg/dL	110 (98-128)	119 (104-147)	123 (110-174)	0.054
Creatinine, mg/dL	0.81 (0.68-1.2)	0.85 (0.7-1.01)	0.89 (0.72-1.08)	0.451
BUN, mg/dL	14 (9.3-23)	14.8 (10.9-19.1)	15.4 (12.6-20.7)	0.536
Triglycerides, mg/dL	121 (93-179)	129 (100-168)	130 (100-168)	0.537
Cholesterol, mg/dL	145 (121-175)	135 (115-161)	132 (112-154)	0.606
AST, U/L	26 (20-54)	41 (29-62)	41 (28-75)	0.095
ALT, U/L	28 (17-59)	40 (27-67)	39 (26-62)	0.119
LDH, U/L	289 (195-472)	393 (294-562)	419 (312-652)	<b>0.011</b>
Ferritin, ng/mL	499.7 (78.9-2118)	1092 (529.5-1848)	1320 (879.7-1960)	0.118
CRP, mg/L	59.03 (25.35-121.93)	91.52 (51.85-156.36)	115.6 (64.81-191.97)	<b>0.005</b>
IL-6, pg/mL	33.48 (7.71-79.6)	57.61 (27.94-111.1)	85.34 (37.38-145.35)	0.220
PT, s	12.4 (11.2-13.2)	13 (12.3-14.1)	14.2 (12.9-15)	0.110
aPTT, s	27.8 (24.9-32.1)	30.1 (27.1-32)	29.5 (27.9-33.5)	0.493
INR	1.09 (0.98-1.16)	1.15 (1.07-1.25)	1.25 (1.16-1.31)	0.67
D-dimer, mg/mL	0.5 (0.3-0.8)	0.69 (0.37-1.56)	0.34 (0.26-1.91)	0.56
Fibrinogen, mg/dL	447 (447-447)	672 (551-729)	841 (598-911)	0.279
ProBNP, pg/mL	130 (81-891)	180 (64-499)	134 (90-375)	0.877
T Troponin, ng/mL	14.7 (5-15.5)	6 (5-10.9)	7.7 (5-12.7)	0.185
CPK-MB, ng/mL	1.17 (0.94-1.34)	1.24 (0.69-1.94)	1.44 (0.91-1.90)	0.641
Myoglobin, ng/mL	39.7 (35-49)	54.3 (27-116)	51.3 (32.4-78.8)	0.119
Procalcitonin, ng/mL	0.25 (0.7-0.34)	0.15 (0.1-0.3)	0.1 (0.3-0.25)	0.682

BUN: blood urea nitrogen; AST: aspartate aminotransferase; ALT: alanine aminotransferase; LDH: lactic dehydrogenase; CRP: C-reactive protein; IL-6: interleukin-6; PT: prothrombin time; aPTT: activated partial thromboplastin time; INR: international normalized ratio; ProBNP: probrain natriuretic peptide; CPK-MB: creatine phosphokinase-MB.

Values are median (interquartile range), n (%), or n/N (%), unless otherwise indicated.

\*  $\chi^2$  test used for categorical variables. Kruskal-Wallis test used for continuous variables.

17.6%. The presence of CIC has been previously related with its high mortality due to the development of ARDS,<sup>16</sup> in our population this condition was the main cause of death in a 71% of the total deaths. The thrombosis rate within

our population with CIC diagnosis approximates to the previously reported by other authors. Klok et al. found an incidence of thrombosis complication of 31% in the COVID-19 patients admitted to the intensive care unit.<sup>17</sup> Similarly,

Al-Samkari et al. reported an overall thrombotic complication rate of 18.1% in the critically ill patients.<sup>18</sup> We don't make the distinction of the severity of the disease in our population, but we reported higher presence of severity symptoms and biochemical factors associated in the group that received full-dose anticoagulation, the same group that had higher mortality and thrombosis rates within our population. **Table 4**

Obesity, type 2 diabetes mellitus and systemic arterial hypertension was previously reported as the most prevalence comorbidities in the Mexican population, these data were consistence in our study population.<sup>19,20</sup>

In our total population thrombosis rate was reported in the 4.62%, whether the diagnosis of CIC was established at admission or not. We believe that this low rate of thrombosis, compared with the reported by Klok et al. and Al-Samkari et al., was determined by the early initiation of thromboprophylaxis in most of our population (n = 410), but because of the character of the present study we cannot associated this relation. It is remarkable that the thrombosis diagnosis definition was made according to the presence of a thrombus detected by an imaging diagnostic method, as Doppler ultrasound of lower extremities, computed tomography, angiography for pulmonary embolism or by interventional angiography.<sup>17,18</sup>

The clinical physicians of our institute preferred the initiation of early thromboprophylaxis over full-dose anticoagulation or none-to-them, this shows a level of adherence of 77% to the recommendations by the International Guidelines regarding the preferred treatment at admission.<sup>13,14</sup> We assumed that the decision of full-dose anticoagulation was taken according to the severity factors presented in much higher proportions in this population (**Tables 2 and 3**). Currently, the evidence supports the use of prophylactic doses over full-dose or intermediate-anticoagulation.<sup>21,22,23</sup>

We found that the level of adherence to the intentional search of CIC at the time of hospital admission is closed to 22% in our population. In those whom CIC diagnosis was investigated, the reported incidence was 29.3%. We believe the incidence of CIC can be higher if there were more adherence to the recommendations by the International Guidelines. The high mortality and thrombosis rates associated with this condition must warn our clinical physicians to commit to the intentional investigation of this diagnosis.

REFERENCES

1. Liao D, Zhou F, Luo L, Xu M, et al. Haematological characteristics and risk factors in the classification and prognosis evaluation of COVID-19: a retrospective cohort study. *Lancet Haematol* 2020; 7: 671-78. doi: 10.1016/S2352-3026(20)30217-9.

**Table 4.** Outcome stratified by the therapeutic received

Total (n = 532)	No treatment N = 71 (13.3%)	Thromboprophylaxis N = 410 (77%)	Therapeutic anticoagulation n = 51 (9.5%)	p value
Length of stay	5 (2-10)	9 (6-16)	10 (6-19)	0.002
Thrombotic event	5 (7%)	14 (3.4%)	6 (11.8%)	0.018
Mortality	9 (13%)	56 (13.9%)	11 (22%)	0.287

Values are median (interquartile range), n (%), or n/N (%), unless otherwise indicated.  
\*  $\chi^2$  test used for categorical variables. Kruskal-Wallis test used for continuous variables.

2. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020; 395: 497-506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
3. Berlin DA, Gulick RM, Martinez F. Severe COVID-19. *N Engl J Med* 2020; 383: 2451-2460. doi: 10.1056/NEJMc2009575.
4. Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC. Pathophysiology, transmission, diagnosis, and treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *JAMA* 2020; 324: 782-793. doi:10.1001/jama.2020.12839.
5. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost* 2020; 18: 844-847. doi: 10.1111/jth.14768.
6. Iba T, Levy J, Levi M, Thachil J. Coagulopathy in COVID-19. *J Thromb Haemost* 2020; 18: 2103-2109. doi: 10.1111/jth.14975.
7. Joly B, Siguret V, Veyradier A. Understanding pathophysiology of hemostasis disorders in critically ill patients with COVID-19. *Intensive Care Med* 2020; 46: 1603-1606. doi: 10.1007/s00134-020-06088-1.
8. Tay MZ, Poh CM, Renia L, MacAry PA, Ng LF. The trinity of COVID-19: Immunity, inflammation, and intervention. *Nat Rev Immunol* 2020;20:363-374
9. Terpos E, Ntanasis-Stathopoulos I, Elalamy I, et al. Hematological findings and complications of COVID-19. *Am J Hematology* 2020; 95: 834-847. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0311-8>.
10. Leentjens J, van Haaps TF, Wessels PF, Schutgens RE, Middeldorp S. COVID-19 associated coagulopathy and antithrombotic agents—lessons after 1 year. *Lancet Haematol* 2021; 8: 524-533. doi: 10.1016/S2352-3026(21)00105-8.
11. Ortega-Paz L, Capodanno D, Montalescot G, Angiolillo D. Coronavirus disease 2019—associated thrombosis and coagulopathy: Review of the pathophysiological characteristics and implications for antithrombotic management. *J Am Heart Assoc* 2021; 10: e019650. doi: 10.1161/JAHA.120.019650.
12. Thachil J, Tang N, Gando S, et al. ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19. *J Thromb Haemost* 2020; 18: 1023-1026. doi: 10.1111/jth.14810.
13. Cuker A, Tseng EK, Nieuwlaat R, Angchaisuksiri P, et al. American Society of Hematology living guidelines on the use of anticoagulation for thromboprophylaxis in patients with COVID-19. *Blood Adv* 2021; 5: 3951-3955. doi: 10.1182/bloodadvances.2020003763.
14. Zhang S, Li Y, Liu G, Su B. Intermediate-to-therapeutic versus prophylactic anticoagulation for coagulopathy in hospitalized COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *Thromb J* 2021; 19: 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12959-021-00343-1>.
15. Iba T, Warkentin TE, Thachil J, Levi M, Levy JH. Proposal of the definition for COVID-19-associated coagulopathy. *J Clin Med* 2021; 10: 1-9. doi: 10.3390/jcm10020191.
16. Connors JM, Levy JH. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation. *Blood* 2020; 135: 2033-2040. doi: 10.1182/blood.2020006000.
17. Klok FA, Kruip MJHA, van der Meer NJM, Arbous MS, et al. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res* 2020; 191: 145-147. doi: 10.1016/j.thromres.2020.04.013.
18. Al-Samkira H, Karp Leaf RS, Dzik WH, Carlson J, et al. COVID and anticoagulation: Bleeding and thrombotic manifestations of SARS-CoV2 infection. *Blood* 2020; 136: 489-500. doi: 10.1182/blood.2020006520.
19. Hernández-Garduño. Obesity is the comorbidity more strongly associated for COVID-19 in Mexico. A case-control study. *Obes Res Clin Pract* 2020; 14: 375-379. doi: 10.1016/j.orcp.2020.06.001.
20. Parra-Bracamonte GM, Lopez-Villalobos N, Parra-Bracamonte FE. Clinical characteristics and risk factors for mortality of patients with COVID-19 in a large data set from Mexico. *Ann Epidemiol* 2020; 52: 93-98. doi: 10.1016/j.annepidem.2020.08.005.
21. Zhang S, Li Y, Liu G, Su B. Intermediate-to-therapeutic versus prophylactic anticoagulation for coagulopathy in hospitalized COVID-19 patients: a systemic review and meta-analysis. *Thromb J* 2021; 19: 91. doi: 10.1186/s12959-021-00343-1.
22. Rentsch, CT, Beckman JA, Tomlison L, Gellad W, et al. Early initiation of prophylactic anticoagulation for prevention of coronavirus disease 2019 mortality in patients admitted to hospital in the United States: cohort study. *BMJ* 2021; 372: n311. doi: 10.1136/bmj.n311.
23. Tiwari NR, Khatib KI, Dixit SB, Rathore P, et al. Anticoagulation in COVID-19: An update. *J Crit Care Med* 2020; 6: 217-233. doi: 10.2478/jccm-2020-0033.

doi.org/10.24245/rev\_hematol.v24i3.6896

## Detección de FLT3-ITD y su papel en el diagnóstico de pacientes pediátricos con leucemia mieloide aguda

### Detection of FLT3-ITD and its role in the diagnosis of pediatric patients with acute myeloid leukemia.

Elizabeth Candy Ramírez Martínez,<sup>1</sup> Víctor Manuel Ortiz Gálvez,<sup>1</sup> Dinora Virginia Aguilar Escobar,<sup>2</sup> María de Lourdes Vega Vega,<sup>3</sup> Sergio Antonio Garay Sánchez<sup>1</sup>

#### Resumen

**OBJETIVO:** Implementar en el laboratorio la detección de FLT3-ITD en pacientes pediátricos con leucemia mieloide aguda.

**MATERIALES Y MÉTODOS:** Estudio retrospectivo efectuado de 2016 a 2020, en el que detallamos la técnica de PCR seguida de electroforesis capilar, mostrando la estrategia de validación del ensayo y nuestra experiencia en el uso de esta técnica en 14 muestras de médula ósea de pacientes pediátricos.

**RESULTADOS:** La técnica de PCR seguida de electroforesis capilar es un método confiable, robusto y preciso, que alcanza sensibilidad de un radio alélico (AR) de  $0.01 \pm 0.001$ . Observamos incidencia de la mutación FLT3-ITD del 14.3% que además presentaron la  $t(15;17)(q22;q12)$ .

**CONCLUSIONES:** Esta técnica puede ser reproducible en otros centros de diagnóstico molecular ayudando al médico en la estratificación del riesgo, seguimiento, tratamiento y pronóstico del paciente con leucemia mieloide aguda.

**PALABRAS CLAVE:** Leucemia mieloblástica aguda; pronóstico; recaída; pediatría; Latinoamérica.

#### Abstract

**OBJECTIVE:** To implement the detection of FLT3-ITD in pediatric patients with acute myeloid leukemia.

**MATERIALS AND METHODS:** A retrospective study performed from 2016 to 2020 in which we detail the PCR technique followed by capillary electrophoresis; showing the validation strategy of the trial and our experience in the use of this technique in 14 bone marrow samples of pediatric patients.

**RESULTS:** We showed that it is an accuracy, robust and precise method, detecting a sensitivity of the test of an allelic ratio (AR) of  $0.01 \pm 0.001$ . We observed an incidence of the mutation FLT3-ITD of 14.3% with acute myeloid leukemia that also had  $t(15;17)(q22; q12)$ .

**CONCLUSIONS:** This technique can be reproduced in other molecular diagnostic centers, helping the doctor in the risk stratification, monitoring, treatment and prognosis of the patient with acute myeloid leukemia.

**KEYWORDS:** Acute myeloid leukemia; Prognosis; Relapse; Pediatrics; Latin America.

<sup>1</sup> Departamento de Genética Molecular.

<sup>2</sup> Subdirección de Diagnóstico y Banco de Sangre.

<sup>3</sup> Dirección General.

Hospital Infantil Teletón de Oncología, Santiago de Querétaro, México.

**Recibido:** septiembre 2021

**Aceptado:** agosto 2023

#### Correspondencia

Elizabeth Candy Ramírez Martínez  
elizabeth.ramirez@hospitalteleton.org.mx

**Este artículo debe citarse como:** Ramírez-Martínez EC, Ortiz-Gálvez VM, Aguilar-Escobar DV, Vega-Vega ML, Garay-Sánchez SA. Detección de FLT3-ITD y su papel en el diagnóstico de pacientes pediátricos con leucemia mieloide aguda. Hematol Mex 2023; 24 (3): 136-144.

## ANTECEDENTES

La mutación de FLT3-ITD (por sus siglas en inglés de FMS-like tyrosine kinase 3-internal tandem duplication) es una de las alteraciones más comunes en leucemia mieloide aguda, ocurre aproximadamente en el 20 al 30% de los pacientes con este tipo de leucemia<sup>1,2,3</sup> (el 35% de adultos<sup>4</sup> y 12% de niños<sup>5,6</sup>). Se ha demostrado que la mutación FLT3-ITD (FLT3-ITD+) se asocia con mal pronóstico,<sup>2,3</sup> ya que existe aumento en el riesgo de recaída,<sup>1,2,4,7</sup> una recuperación clínica menor, menores tasas de curación<sup>2</sup> y disminución de la supervivencia libre de enfermedad,<sup>1</sup> supervivencia libre de evento<sup>1,8</sup> y supervivencia global,<sup>1,4,5</sup> por lo que la última actualización de la WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (2017) reconoce a FLT3-ITD como una de las mutaciones que son de significación pronóstica en leucemia mieloide aguda.<sup>9</sup> En específico se sabe que la población pediátrica tiene disminución de la supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global.<sup>10</sup>

La investigación acerca de la importancia de la FLT3-ITD+ en el pronóstico ha avanzado considerablemente, demostrando que no solo es importante determinar la presencia de FLT3-ITD+, sino que además es fundamental determinar la relación entre el alelo mutado y el alelo normal (radio alélico, AR) reflejando la pérdida completa o parcial del alelo normal (FLT3/wt).<sup>5,8,10,11</sup>

Además, conocer la existencia de la mutación FLT3-ITD puede beneficiar al paciente en el seguimiento postratamiento como marcador de enfermedad mínima residual (EMR) o para la administración de medicamentos donde uno de los blancos sea FLT3 (por ejemplo, quizartinib, midostaurin, lestaurtinib, sorafenib, ponatinib, sunitinib, crenolanib y gilteritinib<sup>2</sup>).

A pesar de que en México se ha reportado una prevalencia del 12 al 22% de FLT3-ITD+ en

pacientes con leucemia mieloide aguda (pediátricos y adultos),<sup>4,5</sup> la detección aún no se realiza rutinariamente en México.<sup>5</sup> El objetivo del estudio fue implementar la detección de la mutación FLT3-ITD como prueba diagnóstica mediante la validación cualitativa y cuantitativa para diagnóstico y seguimiento clínico a partir de los patrones de referencia del *College of American Pathologists* para enfermedad molecular. En este artículo detallamos la estrategia de validación del ensayo y nuestra experiencia en el uso de esta técnica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Proceso

*Muestras:* Para la validación se utilizaron muestras de sangre periférica de personas sanas y ADN del control de calidad externo del CAP, mientras que para determinar la sensibilidad se utilizó ADN de una muestra de médula ósea (MO) FLT3-ITD+. Después de la validación se utilizaron muestras de médula ósea de 14 pacientes pediátricos (menores de 18 años) con leucemia mieloide aguda. Todas las muestras se obtuvieron después de firmar el consentimiento informado de acuerdo con la declaración de Helsinki.

*Extracción de ADN:* El ADN se extrajo de las muestras de sangre periférica y médula ósea con el estuche QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Alemania) de acuerdo con las instrucciones de uso del proveedor.

*Reacción en cadena de la polimerasa:* Se seleccionaron los iniciadores para ITD publicados por Murphy y colaboradores en 2006<sup>1</sup> amplificando el exón 11 forward 5'-6-FAMG-CAATTTAGGTATGAAAGCCAGC-3' y el exón 12 reverse 5'-HEX-CTTTCAGCATTGACGG-CAACC-3' (Integrated DNA Technologies, Estados Unidos) a una concentración de 1 mM por reacción. Se utilizó el kit de PCR AmpliTaq

Gold™ DNA Polymerase with Buffer I (Applied Biosystems, Estados Unidos). El volumen final de cada reacción fue de 50 µL, que corresponden a 10 mL de ADN al 0.1 ng/mL más 40 mL de una mezcla de: 0.5 mL de polimerasa 125 U (Ampli-Taq Gold DNA Polymerase, ThermoFisher, Estados Unidos), 5 µL de PCR Gold Buffer sin MgCl<sup>2</sup> 1x, 2 µL de MgCl 50 mM, 4 µL dNTP's (dNTP Mix, ThermoFisher, Estados Unidos) 10 mM, 1 µL de cada primer y 26.5 µL de agua libre de DNAsas y RNAsas. Las temperaturas de ciclado fueron: 95°C por 9 minutos, seguidos de 35 ciclos de 93°C por 30s, 56°C por un minuto y 72°C por 2 minutos con una extensión final a 72°C por 7 minutos.

*Análisis de fragmentos:* Se inyectaron 8.5 µL de Hi-Di™ Formamide (Applied Biosystems, Estados Unidos) más 0.5 µL de GeneScan™ 500 LIZ™ dye Size Standard (Applied Biosystems, Estados Unidos) y 1 µL de amplificado de cada muestra por pozo. Las muestras se examinaron en el analizador genético (Genetic Analyzer 3500 de Applied Biosystems/HITACHI, Estados Unidos) usando el programa STR-TIME inyección.

Los resultados se analizaron en el programa Gene Mapper 5 con el método de análisis HID Method GM 4.1.

*Radio alélico de FLT3-ITD (AR):* Se calculó en las muestras positivas dividiendo la altura bajo la curva del alelo mutado entre el alelo normal (FLT3-ITD/FLT3-wt).<sup>3,11</sup>

*Diseño y síntesis de controles positivos:* El diseño de los controles positivos de ADN de la mutación ITD del gen de FLT3 en los exones 12 y 13 y del gen normal (FLT3-WT) se realizó in silico con plataformas de análisis bioinformático (GeneBank/Blast) para formar gBlocks® Gene Fragments (FLT3 de 329 nucleótidos ID.19314873/138693488 y FLT de 366 nucleótidos ID.19314872/138693487) usando los iniciadores como base para elegir los nucleótidos

intermedios en la secuencia base para posteriormente ser sintetizados por IDT (Integrated DNA Technologies, Estados Unidos) a 500 ng y reconstituídos para obtener una concentración de 0.1 ng/mL para la PCR. La secuencia de los controles se muestra en el **Cuadro 1**.

### Estandarización del proceso

*Veracidad:* Se analizaron 9 muestras de sangre periférica negativas y 2 muestras positivas FLT3-ITD del control de calidad externo del CAP, una muestra de ADN del control positivo sintético mutado y una muestra de ADN del control positivo sintético normal analizándose el resultado cualitativo.

*Precisión:* Se procesaron por duplicado 10 muestras de pacientes sanos (sangre periférica), 5 muestras de ADN del control positivo sintético mutado y 5 muestras de ADN del control positivo sintético normal analizándose el resultado cualitativo y el tamaño de la repetición ITD. El proceso se realizó por duplicado en la misma corrida analítica.

*Reproducibilidad:* Se evaluaron 2 muestras de pacientes sanos (sangre periférica), una muestra de ADN sintético normal y una muestra de ADN sintético mutado durante 5 ensayos en diferentes días de proceso.

*Sensibilidad analítica:* Se realizaron diluciones a 10%, 5%, 1%, 0.8%, 0.6%, 0.4% y 0% entre una muestra de médula ósea negativa a la mutación con una muestra de médula ósea positiva a la mutación (heterocigota con radio alélico de 1.0). Este proceso se realizó por triplicado.

### Análisis de muestras de pacientes

A partir de la implementación de la prueba se analizaron 14 muestras de médula ósea de pacientes pediátricos (menores de 18 años) con leucemia mieloide aguda confirmada por

**Cuadro 1.** Secuencia de los controles sintéticos para FLT3. Se muestra la secuencia de nucleótidos correspondiente al control sintético mutado (362 nt) y al control sintético normal (325 nt)

	Secuencia	Tamaño (nt)
CP sintético mutado	TTTTTGCAATTTAGGTATGAAAGCCAGCTACAGATGGTACAGGTGACCGGCTCCTCAGATAACGACTACTGCTACGTAGATTTGAGAGGATATGAGTATGAGTACGTCAACCTTGATGTCAGAGTATGTCATATGATCTCAAATGGGAGTTCCAAGAGAAAATTTAGAGTTTGGTAAGAATGGAATGTGCCAAATGTTCTGCAGCATTCTTTTCCATTGGAAAATCTTTAAAATGCACGTACTIONACCATTGTCTTTGCAGGGAAGGTACTAGGATCAGGTGCTTTTGGAAAAGTGATGAACGCAACAGCTTATGGAATTAGCAAAACAGAGTCTCAATCCAGGTTGCCGTCAAATGCTGAAAAGTTTT	362
CP sintético normal	TTTTTGCAATTTAGGTATGAAAGCCAGCTACAGATGGTACAGGTGACCGGCTCCTCAGATAATGAGTACTTCTACGTTGATTTACAGAGAATATGAATATGATCTCAAATGGGAGTTTCCAAGAGAAAATTTAGAGTTTGGTAAGAATGGAATGTGCCAAATGTTCTGCAGCATTCTTTTCCATTGGAAAATCTTTAAAATGCACGTACTIONACCATTGTCTTTGCAGGGAAGGTACTAGGATCAGGTGCTTTTGGAAAAGTGATGAACGCAACAGCTTATGGAATTAGCAAAACAGGAGTCTCAATCCAGGTTGCCGTCAAATGCTGAAAAGTTTT	325

inmunofenotipo en el Hospital Infantil Teletón de Oncología en Querétaro, México, de 2016 a 2020. Describimos la incidencia de la mutación y las características genéticas de los pacientes.

## RESULTADOS

### Estandarización del proceso

Para confirmar la concordancia entre el valor obtenido de una serie de resultados y el valor de referencia aceptado (veracidad) se realizaron análisis a muestras del CAP, encontrándose un 100% de asertividad en los resultados. Al estudiar la precisión de los resultados se observó que las muestras examinadas durante la misma corrida analítica mostraron el mismo resultado cualitativo y en cuanto al tamaño del amplificado se observó una desviación estándar (SD) promedio de 0.03 nucleótidos (nt) en pacientes sanos, 0.05 nt en el control sintético normal y 0.03 nt en el control sintético mutado.

Al evaluar la medida de precisión de un método analítico en diferentes ensayos (reproducibilidad) observamos una dispersión mínima del amplificado entre las 5 repeticiones realizadas en: pacientes sanos (325.41 nt, SD 0.39), ADN

sintético normal (325.50 nt, SD:0.20) y ADN sintético mutado (362.03 nt, SD 0.32).

Para determinar la menor concentración o cantidad de FLT-ITD detectable con razonable certeza (sensibilidad) observamos que una dilución de 0.8% de muestra de MO con FLT3-ITD mutado nos permite tener una sensibilidad de AR de  $0.01 \pm 0.001$ . **Cuadro 2**

Análisis de muestras de pacientes. A partir de la implementación de la prueba se han realizado 14 ensayos de detección de FLT3-ITD en MO de pacientes con leucemia mieloide aguda, de los cuales 2 resultaron positivos para

**Cuadro 2.** Sensibilidad de la prueba de detección de FLT3-ITD por electroforesis capilar

ADN normal (%)	ADN mutado (%)	Radio alélico (AR)	SD
90	10	0.082	0.024
95	5	0.035	0.005
99	1	0.019	0.002
99.2	0.8	0.010	0.001
99.4	0.6	0	0
99.6	0.4	0	0
100	0	0	0



la duplicación FLT3-ITD (14.3%) presentando diferentes tamaños de la duplicación y del AR para cada paciente (**Cuadro 3**). Los pacientes que fueron positivos también mostraron la t(15;17) (q24;q21). Los datos clínicos y genéticos al diagnóstico se presentan en el **Cuadro 4**.

**DISCUSIÓN**

Debido a la importancia de la mutación de FLT3-ITD en pacientes con leucemia mieloide aguda y a que su detección no se realiza rutinariamente en México,<sup>5</sup> establecimos la estandarización de la técnica para diagnóstico clínico. Utilizamos el método de electroforesis capilar debido a que tiene mayor sensibilidad que los ensayos de electroforesis en gel de agarosa,<sup>3</sup> permitiendo un dimensionamiento más preciso de las mutaciones ITD y la capacidad para resolver múltiples bandas de tamaños similares que no podrían ser resueltas por geles de agarosa. En nuestros resultados observamos una veracidad, precisión y reproducibilidad del 100%. La sensibilidad de la técnica a una dilución del 0.8% alcanzó un AR de 0.01 con error de medida de 0.001, similar a lo reportado por el grupo de Sakaguchi y colaboradores, que describieron sensibilidad de la prueba con un AR de 0.017 al combinar dos líneas celulares (MV4-11 y NKM-1, 0.2% de ADN mutado),<sup>3</sup> por lo que nuestros resultados tienen concordancia en la sensibilidad del método a pesar de ser diferente matriz biológica.

Asimismo, nuestro límite de sensibilidad alcanzó una dilución del 0.08% que es comparable al

4% que se obtuvo por secuenciación de nueva generación (NGS).<sup>5</sup>

Después, analizamos muestras de médula ósea de pacientes pediátricos con leucemia mieloide aguda y observamos una tasa de FLT3-ITD+ del 14.3% que es similar a lo publicado mundialmente (12-25%)<sup>2</sup> y para la población pediátrica mexicana del 12.5% que fue analizada por NGS.<sup>5</sup> Si bien se ha reportado que la mutación FLT3-ITD es más frecuente en pacientes con cariotipo normal<sup>12</sup> y con la t(15;17)(q22; q12),<sup>9</sup> nuestros pacientes con la mutación en FLT3-ITD mostraron la t(15;17)(q22; q12), el 85.7% restante (FLT3-wt) mostró translocaciones, como la t(9;11)(p22;q23), t(10;11)(p12;q23), inv(16)(p13q22), t(15;17)(q22; q12) y alteraciones en el cariotipo (**Cuadro 4**); es posible que nuestro reducido número de casos no permita observar la incidencia de FLT3-ITD asociadas con otros tipos de alteraciones genéticas que han descrito otros grupos.

Se ha documentado que las mutaciones FLT3-ITD+ ocurren en el 30 al 40% de las leucemias promielocíticas agudas (PML)<sup>11,13,14</sup> y se asocian con leucocitosis<sup>12,15</sup> y morfología microgranular, en nuestro caso equivale al 40% de pacientes con PML. Si bien la translocación t(15;17) (q22;q12) con el transcrito de fusión PML-RARA está asociada con mayor tasa de remisión y mejor pronóstico,<sup>5,11,13,16</sup> el papel de la mutación de FLT3-ITD y la t(15;17) (q22;q12) ha sido controvertido debido a que algunos grupos han reportado un efecto

**Cuadro 3.** Seguimiento de FLT3-ITD en leucemia mieloide aguda

ID paciente	Tamaño del alelo mutado	Tamaño de las repeticiones cortas en tándem	Radio alélico
2	346.6	21.6	0.044
10	376.8	51.8	0.580

**Cuadro 4.** Datos clínicos y genéticos de pacientes con leucemia mieloide aguda (continúa en la siguiente página)

ID	Sexo	Edad (años)	Hb	WBC	Pt 1x10 <sup>3</sup>	Blastos (%)	Blastos por INF (%)	FAB	Cariotipo	Alteración genética por PCR	FLT3-ITD (AR)	Estatus
1	M	< 1	7.5	97,600	51	32,208 (33%)	47.45	M4Eo	46,XY,inv(16)(p13.1;q22)[9]/46,XY[11]	inv(16)(p13;q22)	ND	Vigilancia
2	F	5	8.9	120,400	85	109,564 (91%)	77.21	M3	46,XX,t(15;17)(q24;q21)[20]	t(15;17)(q24;q21)	0.044	HSCT
3	F	2	11.7	29,900	357	12,259 (41%)	57.04	M7	46,XX,t(15;7)(p13;q34;q11.2)[17]/46,XX[3]	ND	ND	Vigilancia
4	M	10	8.4	780	32	23 (3%)	73.40	M3	46,XY,t(15;17)(q24;q21)[13]/46,XY[7]	t(15;17)(q24;q21)	ND	Vigilancia
5	F	6	7.9	75,030	155	66,026 (88%)	80.00	M6b	47,XX,+21c[20]	ND	ND	Vigilancia
6	F	1	9.8	9250	79	462 (5%)	70.16	M5a	42~114,XXXX,X,+1,+1+der(1)t(1;5)(p36;q22),t(1;5)(p36;q22)x2,+2,+2,+3,+3,+5,+5,+5,+5,+6,+6,+6,del(6)(q16),+7,+7,+7,del(7)(q32),+8,+8,+8,+8,+9,t(9;1)(p21;q23)x2,+dr(9),+10,+10,+10,+10,+10,+11,+11,+11,+11,+13,+13,+13,+13,+14,+14,+15,+15,+15,+15,+16,+16,+16,+16,+17,+17,+17,+17,+18,+18,+18,+18,+19,+19,+19,+19,+19+20,+20,+20,+21,+21,+21,+21,+21,+22,+22,+22[cp20]	t(9;11)(p22;q23)	ND	+
7	M	11	9.8	37,560	18	12,019 (32%)	72.37	M1	45,XY,t(2;3)(q33;q21),del(7)(q22),-17[17]/46,XY[3]	ND	ND	+
8	F	14	9.8	1371	17	671 (49%)	72.00	M3	47,XX,+8[11]/47,XX,+18,t(15;17)(q24;q21)[9]	t(15;17)(q24;q21)	ND	En tratamiento
9	M	6	9.4	8420	172	6736 (80%)	82.39	M3	46,XY,t(15;17)(q24;q21)[13]/46,XY[7]	t(15;17)(q24;q21)	ND	+
10	M	14	5.9	2020	5	828 (41%)	57.19	M3	46,XY,t(15;17)(q24;q21)[20]	t(15;17)(q24;q21)	0.58	En tratamiento
11	M	< 1	11.9	9850	52	197 (2%)	72.00	M7	62~91,XY,+X,+Y,+1,+1,+2,+2,+3,+3,+4,+4,+4,+5,+5,+6,+6,+7,+7,+8,+8,+9,+9,+10,+10,+11,+11,+12,+12,+13,+13,+14,+14,+15,+15,+15,+16,+16,+17,+17,+18,+18,+19,+19,+20,+20,+21,+21,+22,+22[cp4]/46,XY[16]	ND	ND	En tratamiento

**Cuadro 4.** Datos clínicos y genéticos de pacientes con leucemia mieloide aguda (continuación)

ID	Sexo	Edad (años)	Hb	WBC	Pt $1 \times 10^3$	Blastos (%)	Blastos por INF (%)	FAB	Cariotipo	Alteración genética por PCR	FLT3-ITD (AR)	Estatus
12	M	2	8.2	5810	6	290 (5%)	59.00	M7	58~76,XY,+X,+X,+Y,+1,+2,+2,+3,+3,+4,+4,+5,+6,+7,+7,+8,+9,+9,+10,+10,+11,+12,+13,+14,+15,+16,+16,+17,+18,+19,+19,+20,+20,+21,+21+22,+22,+mar[cp11]/46,XY[9]	ND	ND	En tratamiento
13	F	<1	10.4	13,060	13	3918 (30%)	97.00	M5	47,XX,+8,ins(10;11)(p12;q23;q23)[9]/47,XX,+8[11]	t(10;11)(p12;q23)	ND	En tratamiento
14	M	14	10.9	65,220	142	55,437 (85%)	89.3	M5b	47,XY,+8,t(9;11)(p21;q23)[20]	t(9;11)(p22;q23)	ND	+

ID: número identificador del paciente; F: femenino; M: masculino; Hb: hemoglobina; WBC: leucocitos; Pt: plaquetas; INF: inmunofenotipo; LA B/M: leucemia linfóide aguda B/leucemia mieloide aguda; HSCT: trasplante de células progenitoras hematopoyéticas; FAB: clasificación francesa-británica-americana; AR: ratio alélico; t: defunción; ND: no detectada.

negativo,<sup>13</sup> mientras que otros no encuentran repercusión significativa en la supervivencia y pronóstico.<sup>4,11,16</sup> En específico, un estudio realizado con pacientes pediátricos observó que en presencia de ambas anomalías genéticas (FLT3-ITD y PML-RARA) los pacientes tienen coagulación intravascular diseminada (DIC), hemorragia y un efecto negativo en la supervivencia global (OS a 2 años 44.6 vs 96%,  $p = 0.001$ ) al compararlos con pacientes sin la mutación de FLT3-ITD.<sup>13</sup>

Recientemente en diversas investigaciones del papel de FLT3-ITD+ se remarcó la importancia predictiva del AR; se ha observado que un  $AR \geq 0.4$  en niños y  $\geq 0.5$  adultos se asocian con un efecto adverso en la supervivencia libre de evento y con incremento de respuesta disminuida,<sup>11</sup> además de ser relevante en el pronóstico del paciente durante el periodo de inducción en comparación con pacientes con  $AR < 0.4$  o FLT3/wt,<sup>5,8,10,11</sup> además de que ex vivo se ha asociado un  $AR > 0.5$  con mejor respuesta de la inhibición de FLT3 por gilteritinib (inhibidor de FLT3).<sup>8</sup> Si bien se ha documentado que los adultos muestran mayor probabilidad de tener la FLT3-ITD+4 y además de que el  $AR \geq 0.5$  ocurre más en adultos que en niños (87.5 vs 63.6%),<sup>13</sup> es importante determinar el AR en los pacientes pediátricos, ya que, como observamos en nuestros pacientes, uno de ellos mostró un AR de 0.58 estratificando al paciente como de alto riesgo durante el periodo de inducción y en el pronóstico de recaída.

Diferentes publicaciones remarcaron que la presencia de la mutación FLT3-ITD está relacionada con un alto conteo de leucocitos,<sup>12,15</sup> blastos<sup>6,12,14,15</sup> y hemoglobina (Hb) al diagnóstico;<sup>4,11</sup> en específico, Cuevo-Sierra y colaboradores<sup>12</sup> publicaron que la  $Hb > 9.6$ ,  $WBC > 20 \times 10^9$  son los factores más relevantes para predecir la ocurrencia de la mutación FLT3-ITD, mientras que Souza-Melo y su grupo<sup>16</sup> notaron que el conteo de plaquetas fue

menor en pacientes FLT3-ITD+ al compararlos con pacientes adultos FLT3/wt; sin embargo, nuestros pacientes FLT3-ITD+ no cumplieron en su totalidad con los criterios publicados por esos grupos, es posible que nuestro número reducido de pacientes no nos permita observar lo antes reportado.

Por último, consideramos que hubiera sido enriquecedor haber dado seguimiento a la presencia de FLT3-ITD+ como EMR durante el tratamiento para así evaluar la necesidad de un tratamiento específico contra FLT<sup>3,7</sup> modificarlo en caso de ya estar administrando un inhibidor de FLT3 o, bien, tomar otras decisiones clínicas con base en la persistencia o ausencia de FLT3-ITD+ durante el tratamiento.

## CONCLUSIONES

El ensayo diagnóstico molecular de FLT3-ITD implementado provee un método confiable, robusto y sensible. En esta publicación se plasman los datos para que esta técnica sea reproducible en otros centros oncológicos.

Éste es un proyecto innovador en México debido a lo valioso de conocer la presencia de FLT3-ITD y el radio alélico de la mutación, ya que permite al médico determinar una estratificación del riesgo más precisa, así como a la decisión del tratamiento que puede cambiar el pronóstico del paciente con leucemia mieloide aguda y de esa forma ayudar en aumentar la supervivencia.

## REFERENCIAS

- Murphy KM, Hafez MJ, Smith BD, Cooper LC, Berg KD. Detection of FLT3 internal tandem duplication and D835 mutations by a multiplex polymerase chain reaction and capillary electrophoresis assay. *J Mol Diagnostics* 2003; 5: 96-102. doi: 10.1016/S1525-1578(10)60458-8.
- Sexauer AN, Tasian SK. Targeting FLT3 signaling in childhood acute myeloid leukemia. *Front Pediatr* 2017; 5: 1-9.
- Sakaguchi M, Nakajima N, Yamaguchi H, Najima Y, et al. The sensitivity of the FLT3-ITD detection method is an important consideration when diagnosing acute myeloid leukemia. *Leuk Res Reports* 2020; 13: 100198. doi: 10.1016/j.lrr.2020.100198.
- Cuervo-Sierra J, Jaime-Pérez JC, Gómez-Almaguer D. Mutaciones del módulo FLT3 en leucemia aguda mieloblástica. *Rev Hematol Mex* 2012; 13: 177-184.
- Molina-Garay C, Carrillo-Sánchez K, Flores-Lagunes LL, Jiménez-Olivares M, et al. Profiling FLT3 mutations in Mexican acute myeloid leukemia pediatric patients: impact on overall survival. *Front Pediatr* 2020; 8.
- Burnatt G, Licinio M, Gaspar P, Schweitzer A, et al. Analysis of the presence of FLT3 gene mutation and association with prognostic factors in adult and pediatric acute leukemia patients. *Braz J Pharm Sci* 2017; 53: 1-11. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902017000216105>.
- Levis MJ, Perl A, Altman JK, Gocke CD, et al. A next-generation sequencing-based assay for minimal residual disease assessment in AML patients with FLT3-ITD mutations. *Blood Adv* 2018; 2: 825-831. doi: 10.1182/bloodadvances.2018015925.
- Cucchi DGJ, Denys B, Kaspers G, Janssen J, et al. RNA-based FLT3-ITD allelic ratio is associated with outcome and ex vivo response to FLT3 inhibitors in pediatric AML. *Blood* 2018; 131: 2485-2489. doi: 10.1182/blood-2017-12-819508.
- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France. World Health Organization Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue 4th, 2017.
- Wu X, Feng X, Zhao X, Ma F, et al. Prognostic significance of FLT3-ITD in pediatric acute myeloid leukemia: a meta-analysis of cohort studies. *Mol Cell Biochem* 2016; 420: 121-128. doi: 10.1007/s11010-016-2775-1.
- Schnittger S, Bacher U, Haferlach C, Kern W, et al. Clinical impact of FLT3 mutation load in acute promyelocytic leukemia with t(15;17)/PML-RARA. *Haematologica* 2011; 96: 1799-1807.
- Cuervo-Sierra J, Jaime-Pérez JC, Martínez-Hernández RA, García-Sepúlveda RD, et al. Prevalence and clinical significance of FLT3 mutation status in acute myeloid leukemia patients in two Latin American countries: A multicenter study. *Arch Med Res* 2016; 47: 172-179. doi: 10.1016/j.arcmed.2016.06.003.
- Rasekh EO, Elsayed GM, Madney Y, El Gammal MM. Prognostic significance of bcr-1 and bcr-3 isoforms of PML-RARA and FLT3-ITD in patients with acute promyelocytic leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2020; 20: 156-167. doi: 10.1016/j.clml.2019.08.006.
- Kottaridis PD, Gale RE, Frew ME, Harrison G, et al. The presence of a FLT3 internal tandem duplication in patients with acute myeloid leukemia (AML) adds important prognostic information to cytogenetic risk group and response to the first cycle of chemotherapy: analysis of 854 patients from the United Kingdom Medical Research Council AML 10 and 12 trials. *Blood* 2001; 98: 1752-1759. doi: 10.1182/blood.v98.6.1752.

15. Byun JM, Kim Y, Yoon H, Kim S, et al. Cytogenetic profiles of 2806 patients with acute myeloid leukemia. Retrospective multicenter nationwide study. *Ann Hematol* 2016; 95: 1223-1232. doi: 10.1007/s00277-016-2691-1.
16. Souza-Melo CP, Brant-Campos C, Pimenta-Dutra Á, Aguirre-Neto JC, et al. Correlation between FLT3-ITD status and clinical, cellular and molecular profiles in promyelocytic acute leukemias. *Leuk Res* 2015; 39: 131-137. doi:10.1016/j.leukres.2014.11.010.

doi.org/10.24245/rev\_hematol.v24i3.9030

# L-asparaginasa en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda, sus efectos adversos y oportunidades en la optimización del tratamiento

## L-asparaginase in the treatment of acute lymphoblastic leukemia, its adverse effects, and opportunities for treatment optimization.

Jesús Alonso Gándara Mireles,<sup>1,6</sup> Ismael Lares Asseff,<sup>1,6</sup> Elio Aarón Reyes Espinoza,<sup>2</sup> Lourdes Patricia Córdova Hurtado,<sup>2</sup> Flor de María Reyes Gutiérrez,<sup>3</sup> Antonio Sandoval Cabrera,<sup>3,4</sup> Verónica Loera Castañeda,<sup>1,6</sup> Carla Díaz González,<sup>2</sup> Agustín García Vázquez,<sup>2</sup> Ana Rebeca Nava Rodríguez,<sup>2</sup> Leslie Patrón Romero,<sup>5</sup> Horacio Almanza Reyes<sup>5</sup>

### Resumen

El tratamiento contra la leucemia linfoblástica aguda ha mejorado a través de los años debido al desarrollo de estrategias de tratamiento cada vez más efectivas. La L-asparaginasa (L-Asp) es uno de los principales fármacos prescritos en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda cuyo objetivo terapéutico es agotar sistemáticamente el aminoácido no esencial asparagina (Asp) y así causar la muerte de las células leucémicas; sin embargo, las reacciones de hipersensibilidad y la pancreatitis son los principales efectos adversos asociados con este medicamento. Se realizó una revisión de la bibliografía con base en la metodología Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses en las bases de datos SCOPUS, Redalyc, SciELO, ScienceDirect, PubMed y BVS Medline, con el objetivo de describir los avances de L-Asp en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda, sus efectos adversos y oportunidades en la optimización del tratamiento. En primera instancia se obtuvieron 607 artículos que tocaban aspectos de la L-Asp, se realizó una selección de 97 artículos que aportaban respuestas a nuestros objetivos. De acuerdo con esta revisión, la capacidad de individualizar la terapia, ajustar la dosis o cambiar la formulación de L-Asp puede ayudar a reducir los efectos adversos, así como a identificar a los pacientes con inactivación silenciosa y de esta manera mejorar la seguridad y eficacia en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda en tratamiento con L-Asp.

**PALABRAS CLAVE:** L-asparaginasa; leucemia linfoblástica aguda; pancreatitis.

### Abstract

Treatment of acute lymphoblastic leukemia has improved over the years due to the development of increasingly effective treatment strategies. L-asparaginase (L-Asp) is one of the main drugs used in the treatment of acute lymphoblastic leukemia whose therapeutic objective is to systematically deplete the non-essential amino acid asparagine (Asp) and thus cause the death of leukemia cells; however, the hypersensitivity reactions and pancreatitis are the main adverse effects associated with this medication. A review of the literature was carried out based on the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses methodology in Redalyc, SciELO, ScienceDirect, PubMed, BVS Medline and SCOPUS databases, with the aim of describing the advances in the treatment with L-Asp against acute lymphoblastic leukemia, its adverse effects and opportunities in treatment optimization. In the first instance, a total of 607 articles that talked about aspects of L-Asp were obtained, a selection of 97 articles that provided answers to our objectives of this review. According to this review, the ability to indi-

<sup>1</sup> Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR- Unidad Durango, México.

<sup>2</sup> Centro Estatal de Cancerología, CECAN Durango, México.

<sup>3</sup> Instituto Materno Infantil del Estado de México, México.

<sup>4</sup> Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de México, México.

<sup>5</sup> Facultad de Medicina y Psicología, Universidad Autónoma de Baja California, Tijuana, Baja California, México.

<sup>6</sup> Red Latinoamericana de Implementación y Validación de Guías Clínicas Farmacogenómicas (RELIVAF-CYTED).

**Recibido:** septiembre 2023

**Aceptado:** octubre 2023

### Correspondencia

Jesús Alonso Gándara Mireles  
alonso\_930@hotmail.com

### Este artículo debe citarse como:

Gándara-Mireles JA, Lares-Asseff I, Reyes-Espinoza EA, Córdova-Hurtado LP, Reyes-Gutiérrez FM, Sandoval-Cabrera A, Loera-Castañeda V, Díaz-González C, García-Vázquez A, Nava-Rodríguez AR, Patrón-Romero L, Almanza-Reyes H. L-asparaginasa en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda, sus efectos adversos y oportunidades en la optimización del tratamiento. Hematol Mex 2023; 24 (3): 145-162.

vidualize therapy, adjust the dose, or change the formulation of L-Asp may help reduce adverse effects, as well as identify patients with silent inactivation and thus improve the quality of life, safety and efficacy in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia under treatment with L-Asp.

**KEYWORDS:** L-asparaginase; Acute lymphoblastic leukemia; Pancreatitis.

## ANTECEDENTES

La leucemia es un tipo de cáncer de los tejidos de la sangre, incluida la médula ósea. Existen diversos tipos de leucemia, como la linfoblástica aguda, la mieloide aguda y la linfocítica crónica.<sup>1</sup> Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) en su último reporte emitido en 2020, el total de muertes en América por todos los tipos de leucemia fue de 45,688, siendo más común en niños, aunque más letal en adultos.<sup>2</sup> **Cuadro 1**

Entre los diferentes tipos de leucemia la más común es la linfoblástica aguda. En la actualidad el tratamiento contra ésta se basa en una combinación de medicamentos que actúan sobre el ciclo celular de las células leucémicas, a esta combinación de medicamentos para combatir la leucemia linfoblástica aguda se le conoce como quimioterapia combinada. Existen diferentes medicamentos que se administran dentro de la quimioterapia combinada, uno de ellos esencial, pero al mismo tiempo controvertido por su capacidad de generar efectos adversos es la L-asparaginasa (L-Asp); este medicamento tiene actividad enzimática y ha sido componente vital del tratamiento contra la leucemia linfoblástica aguda durante más de 4 décadas.<sup>3,4</sup> Una enzima es una proteína que funciona como un catalizador biológico, acelera la velocidad de una

reacción química específica en la célula.<sup>5,6</sup> Las enzimas pueden operar intracelularmente, extracelularmente o, incluso, en la superficie de una membrana celular.<sup>7</sup> Se han identificado varios cientos de enzimas diferentes; sin embargo, solo algunas de ellas han llamado la atención por su potencial terapéutico, tal es el caso de L-Asp.

Durante las últimas décadas, la supervivencia de los pacientes que padecen leucemia linfoblástica aguda ha mejorado de manera significativa debido al desarrollo de tratamientos efectivos, diseñados para atacar el origen de las clonas leucémicas.<sup>8,9</sup> Estos avances en el desarrollo de tratamientos efectivos han situado a la supervivencia libre de eventos en niños en torno al 80% y la supervivencia general cercana o superior al 90% en países de altos ingresos.<sup>10</sup> Como se mencionó, uno de los pilares en el avance del tratamiento contra la leucemia linfoblástica aguda ha sido L-Asp, que ha tenido un largo desarrollo a través de la historia (**Cuadro 2**). L-Asp se observó por primera vez por Lang y Uber en 1904,<sup>11</sup> quienes realizaron investigaciones sobre las capacidades fisiológicas de la L-Asp. En 1922 Clementi<sup>12</sup> reveló la presencia de L-Asp en el suero sanguíneo de cobayos, esto representó un verdadero avance en las investigaciones acerca de L-Asp, además, él describió algunos hallazgos interesantes sobre las propiedades químicas de la molécula. Con-

Cuadro 1. (continúa en la siguiente página)

País	Muertes totales	Muertes por cada 100,000 habitantes	Muertes en edades de 1-4 años por cada 100,000	Muertes en edades de 5-14 años por cada 100,000	Muertes en edades de 15-24 años por cada 100,000	Muertes en edades de 25-34 años por cada 100,000	Muertes en edades de 35-54 años por cada 100,000
1. Antigua y Barbuda	0	0	0	0	0	0	0
2. Argentina	1707	3.8	0.7	1.4	1.8	1.3	2.3
3. Bahamas	.	.	.	.	.	.	.
4. Barbados	.	.	.	.	.	.	.
5. Belice	.	.	.	.	.	.	.
6. Bolivia	.	.	.	.	.	.	.
7. Brasil	6739	3.2	1.3	1.2	1.2	1.2	1.8
8. Canadá	2752	7.4	0.5	0.5	0.5	0.6	1.4
9. Chile	744	3.9	1.6	1.1	1.4	1.1	1.7
10. Colombia	1833	3.6	1.8	2.3	2	1.6	2.3
11. Costa Rica	227	4.5	0.7	2.4	1.8	1.3	2.6
12. Cuba	564	5	2.1	1.7	1.5	1.2	2.4
13. Dominica	1	1	1	1	1	1	1
14. Ecuador	546	3.1	1	1.8	2.1	1.6	2.5
15. El Salvador	.	.	.	.	.	.	.
16. Estados Unidos	23,421	7.1	0.5	0.4	0.6	0.7	1.8
17. Granada	4	3.6	0	5.6	0	0	3.6
18. Guatemala	509	2.8	1.5	1.7	2.6	2.2	3.1
19. Guyana	21	2.7	1.7	2.1	0.6	3.7	1.1
20. Haití	.	.	.	.	.	.	.
21. Honduras	.	.	.	.	.	.	.
22. Jamaica	.	.	.	.	.	.	.
23. México	4577	3.5	1.9	2.2	3	2.3	2.8
24. Nicaragua	180	2.7	2.1	1.5	2	2.4	2.6
25. Panamá	160	3.8	1	3.2	2.1	1.6	2.8



Cuadro 1. (continuación)

País	Muertes totales	Muertes por cada 100,000 habitantes	Muertes en edades de 1-4 años por cada 100,000	Muertes en edades de 5-14 años por cada 100,000	Muertes en edades de 15-24 años por cada 100,000	Muertes en edades de 25-34 años por cada 100,000	Muertes en edades de 35-54 años por cada 100,000
26. Paraguay	199	2.8	2.2	1.3	1.3	1.7	2.2
27. Perú	1275	3.9	2.5	3.1	3.1	1.7	2.6
28. República Dominicana	.	.	.	.	.	.	.
29. San Cristóbal y Nieves	.	.	.	.	.	.	.
30. San Vicente y las Granadinas	4	3.6	0	0	0	12.4	0
31. Santa Lucía	8	4.4	0	0	3.4	0	3.8
32. Surinam	.	.	.	.	.	.	.
33. Trinidad y Tobago	.	.	.	.	.	.	.
34. Uruguay	217	6.2	1.6	0.4	1.2	1.2	2.3
35. Venezuela	.	.	.	.	.	.	.
Total reportadas	45,688						

Leukaemia. (s/f). Worldhealthorganization.int. Recuperado el 7 de junio de 2023, de <https://platform.who.int/mortality/themes/theme-details/topics/indicator-groups/indicator-group-details/MDB/leukaemia>.  
.: No reportado.

**Cuadro 2.** Principales avances en el desarrollo de L-Asp como agente antitumoral

Año	Avance	Referencia
1904	• Se realizaron investigaciones sobre las capacidades fisiológicas de la L-Asp	Lang y colaboradores <sup>11</sup>
1922	• Se reveló la presencia de L-Asp en el suero sanguíneo de cobayos	Clementi y colaboradores <sup>12</sup>
1953	• Se realizaron pruebas para verificar la capacidad del suero de cobayo como inhibidor de tumores	Kidd y colaboradores <sup>13</sup>
1961	• Se demostró que la L-Asp podría utilizarse como un agente antitumoral en suero de cobayo con especificidad de sustrato	Broome y colaboradores <sup>14</sup>
1965	• Se demostró con mayor detalle la relación entre las actividades inhibitoras de tumores y la cinética enzimática <i>in vitro</i> de algunos tipos de L-Asp incluyendo la nativa <i>E. coli</i>	Broome y colaboradores <sup>15</sup>
2004	• Los pacientes con hipersensibilidad clínica tienen un aclaramiento más rápido cuando se compara con pacientes que no tienen estas reacciones, los anticuerpos producidos por L-Asp podrían ser los causantes de este aumento en el aclaramiento	Panosyan y colaboradores <sup>17</sup>

tinuando la línea de investigación de Clementi, en 1953 Kidd<sup>13</sup> realizó pruebas para verificar la capacidad del suero de cobayo como inhibidor de tumores, en sus experimentos observó cómo dos tipos de linfomas trasplantados retrocedieron regularmente después de repetidas inyecciones intraperitoneales de suero de cobayo normal en ratones que los portaban, estos resultados demostraban una clara actividad antitumoral.

Un avance importante sucedió en 1961 cuando Broome<sup>14</sup> demostró que la L-Asp podría utilizarse como un agente antitumoral en suero de cobayo con especificidad de sustrato y posteriormente demostrando con mayor detalle la relación entre las actividades inhibitoras de tumores y la cinética enzimática *in vitro* de algunos tipos de L-Asp, incluyendo la nativa *E. coli*.<sup>15</sup> La primera remisión completa de un paciente con leucemia linfoblástica aguda de la que se tiene registro fue en 1967;<sup>16</sup> sin embargo, en 1970 se llevaron a cabo las primeras pruebas clínicas con L-Asp de *E. coli* en niños con leucemia linfoblástica aguda en donde se obtuvieron resultados exitosos<sup>17</sup> y a partir de 1978 la L-Asp se ha prescrito en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda.<sup>18</sup>

A pesar de ser una piedra angular en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda, L-Asp se asocia con diferentes efectos adversos y con altas tasas de reacciones de hipersensibilidad (30-70% de los pacientes que reciben L-Asp derivada de *E. coli*; **Cuadro 3**).<sup>19,20</sup> Los efectos adversos asociados son: angioedema, anomalías de la coagulación, hipoalbuminemia, anafilaxia, pancreatitis, hiperglucemia, hiperlipidemia y urticaria.<sup>21</sup> Recientemente algunos estudios han demostrado que, al tratarse de una proteína ajena al organismo, L-Asp puede provocar una respuesta inmunológica que puede ser la causante de las reacciones de hipersensibilidad. En 2004 Panosyan y colaboradores<sup>20</sup> describieron que los pacientes con hipersensibilidad clínica tienen un aclaramiento más rápido cuando se comparan con pacientes que no tienen estas reacciones, los anticuerpos producidos por L-Asp podrían ser los causantes de este aumento en el aclaramiento.<sup>22</sup> Este artículo de revisión tiene como objetivo describir la actualización de la administración de L-Asp en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda, sus efectos adversos y oportunidades en la optimización del tratamiento.

**Cuadro 3.** Grados de severidad de las reacciones de hipersensibilidad causadas por L-Asp según el *Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) V5.0*

Grado	Definición
Grado 1	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Erupción o enrojecimiento durante la infusión que se alivia sin intervención</li> <li>• Fiebre &lt; 38.4°C</li> </ul>
Grado 2	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Síntomas persistentes que requieren interrupción de la infusión</li> <li>• Enrojecimiento</li> <li>• Erupción con urticaria</li> <li>• Disnea</li> <li>• Fiebre ≥ 38.5°C</li> </ul>
Grado 3	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Síntomas persistentes que requieren suspender la infusión</li> <li>• Tos, dificultad para respirar, broncoespasmo u otro síntoma respiratorio significativo</li> <li>• Edema o angioedema</li> <li>• Hipotensión</li> </ul>
Grado 4	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reacción que amenaza la vida y que requiera intervención urgente</li> </ul>
Grado 5	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Muerte</li> </ul>

### APLICACIONES TERAPÉUTICAS DE LA L-ASP

La L-Asp es una enzima que se utiliza principalmente para tratar la leucemia linfoblástica aguda en niños, aunque también se administra en algunos protocolos contra la enfermedad de Hodgkin y la leucemia mielocítica.<sup>23</sup> L-Asp comúnmente se administra junto con otros medicamentos (quimioterapia combinada) como vincristina y un glucocorticoide en la terapia de inducción y ha tenido muy buenos resultados en la remisión de esta enfermedad.<sup>24</sup>

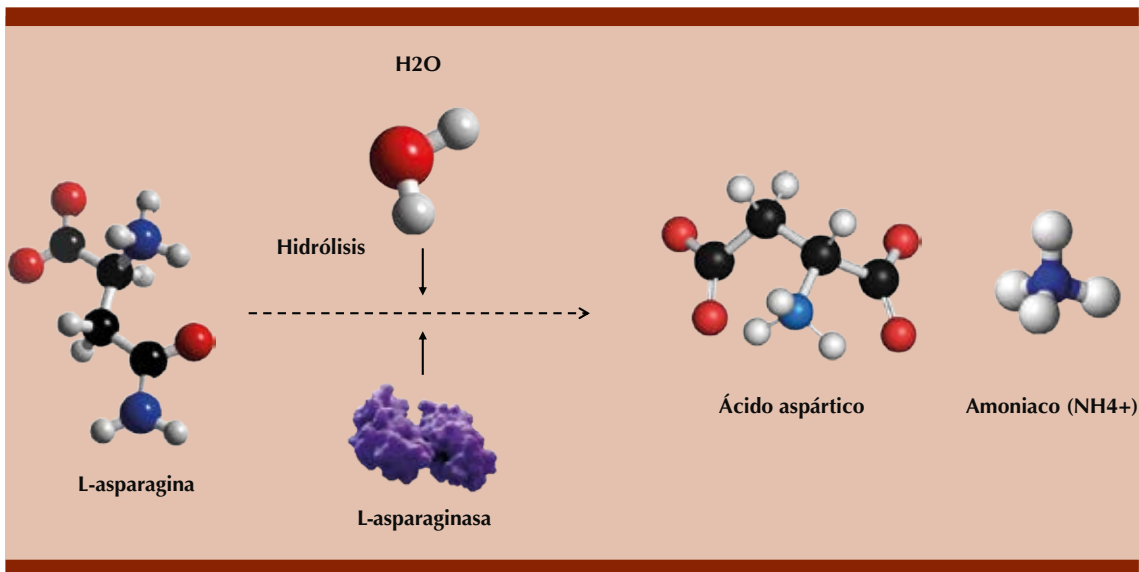
### MECANISMO DE ACCIÓN Y OBJETIVO TERAPÉUTICO DE LA L-ASP

L-Asp tiene capacidad hidrolítica, esto quiere decir que cataliza la hidrólisis de L-asparagina (Asp) en ácido aspártico y amoniaco (**Figura 1**).<sup>25,26</sup> En el organismo tanto las células normales como las células leucémicas necesitan el aminoácido Asp para sus necesidades metabólicas y su supervivencia. Las células sanas pueden sintetizar Asp utilizando la enzima transaminasa que convierte el oxaloacetato en un aspartato intermedio, que luego transfiere un grupo amino del glutamato al oxaloacetato produciendo α-cetoglutarato y

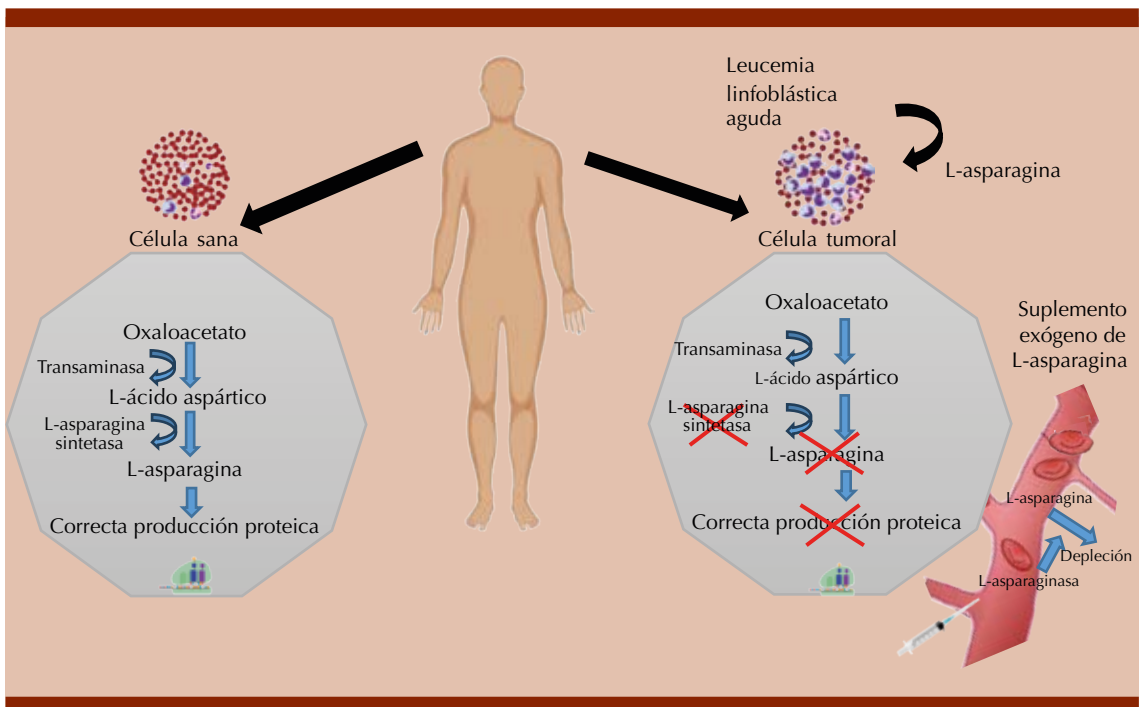
aspartato; el aspartato se convierte en Asp por la enzima asparagina sintetasa. Esto no sucede en las células leucémicas, ya que carecen de la capacidad de sintetizar la Asp debido a la ausencia de asparagina sintetasa, por tanto, dependen del suministro exógeno de Asp para su existencia.<sup>27-30</sup> L-Asp ejerce su efecto terapéutico al agotar la Asp sérica y así dejar a las células leucémicas sin este aminoácido.<sup>31,32</sup> **Figura 2**

### FUENTES DE OBTENCIÓN DE LA L-ASP

En la actualidad existen cinco tipos de L-Asp que se utilizan en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda, tres se derivan de la L-Asp de *Escherichia coli*, la primera es una formulación nativa (marcas Elspar®, Kidrolasa®, Espectros®),<sup>33</sup> mientras que las otras dos son formulaciones que se obtienen como resultado de la conjugación covalente de monometoxipolietilenglicol (PEG) a lisina en la enzima a través de un enlazador de succinato de succinidilo (Oncaspar®)<sup>33,34</sup> o un enlazador de carbonato de succinimidil (Asparlas®);<sup>9,34</sup> esta conjugación con PEG tiene como objetivo retrasar la eliminación de L-Asp del cuerpo y aumentar la vida media en 5.5 días (Oncaspar®) y 16.1 días (Asparlas®), lo que se ve reflejado



**Figura 1.** Hidrólisis de la L-asparagina en ácido aspártico y amoníaco. Elaboración propia con base en la referencia 95.



**Figura 2.** Mecanismo de acción de la L-asparaginasa en el tratamiento contra la leucemia linfoblástica aguda. En una célula leucémica, L-Asp ejerce su efecto terapéutico depleciendo la Asp sérica dejando así a las células leucémicas sin este aminoácido, el cual es fundamental para la correcta síntesis proteica. Elaboración propia con base en la referencia 96.

en menor número de aplicaciones y en menor riesgo de generar anticuerpos y reacciones de hipersensibilidad.<sup>9,35,37</sup> Por último, dos variantes, Erwinase® y Rylaze®, son del mismo producto del gen *Erwinia chrysanthemi* ansB,<sup>9,38</sup> por estas características Oncaspar® y Asparlas® son las variantes mayormente administradas en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda en niños.<sup>38,39</sup>

### EFFECTOS SECUNDARIOS DE LA L-ASP

Es una realidad que L-Asp se asocia con diversos efectos adversos en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda, esto se debe a que L-Asp no solo provoca la muerte de células leucémicas, sino que también puede provocar la muerte de células normales. Además, al tratarse de una enzima de origen bacteriano, el cuerpo puede reconocerla como antígeno extraño y provocar la generación de anticuerpos anti-L-Asp y reacciones de hipersensibilidad como edema, erupciones cutáneas, fiebre y dolor local desproporcionado, entre otros síntomas y efectos adversos, como diabetes, leucopenia, pancreatitis, convulsiones neurológicas y hemorragia.<sup>40,41</sup>

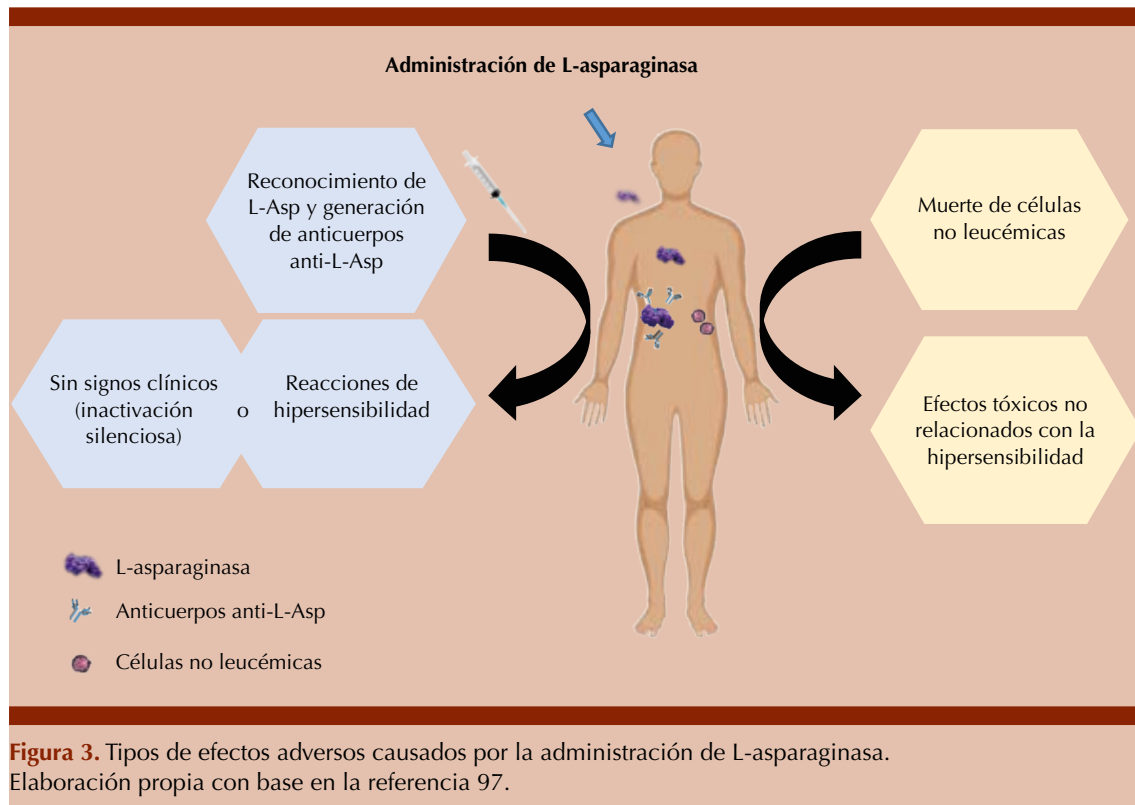
#### Figura 3

Los efectos adversos por L-Asp se han descrito a la par de los avances terapéuticos de L-Asp a lo largo del tiempo. En 1969 Haskell y colaboradores<sup>42</sup> describieron en su trabajo la aparición de diversos efectos tóxicos por la administración de este medicamento en 55 pacientes con enfermedades neoplásicas, entre los efectos tóxicos descritos se encontraron: reacciones de hipersensibilidad en 14 pacientes, disfunción hepática en 33 pacientes, pancreatitis en 6 pacientes e insuficiencia renal en 2 pacientes. El Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) V5.0<sup>43</sup> divide en grados de severidad del 1 al 5 las reacciones de hipersensibilidad clínica causadas por L-Asp, entre ellas se incluyen: exantema, urticaria, fiebre, broncoespasmo, edema y muerte.

### Efectos secundarios de hipersensibilidad clínica por L-Asp

El tipo de L-Asp, la intensidad de la dosis y la consistencia de la dosificación, así como la vía de administración, pueden influir en la probabilidad de una reacción inmunológica durante la terapia con L-Asp.<sup>44,45</sup> En algunos estudios previos se demostró que la L-Asp nativa de *E. coli* causa mayor respuesta inmunológica que la L-Asp PEG;<sup>46,47</sup> además de tener un efecto directo en la aparición de efectos tóxicos, como reacciones de hipersensibilidad clínica, influye en el objetivo terapéutico de L-Asp debido a que los anticuerpos generados pueden desencadenar el aumento del aclaramiento de L-Asp y, por tanto, causar reducción o neutralización de la actividad catalítica de L-Asp.<sup>48,49</sup> Un fenómeno que está frecuentemente presente al administrar la L-Asp es la llamada “inactivación silenciosa”, que se refiere a la existencia de anticuerpos por la administración de L-Asp sin signos clínicos que puede provocar la falla terapéutica sin razón aparente. De ahí la importancia de la vigilancia de la eficacia del agotamiento de Asp, así como la actividad de L-Asp, ya que a menudo el desarrollo de anticuerpos puede pasar inadvertido.<sup>50,51</sup> Por esta razón todos los pacientes a quienes se les administra L-Asp de cualquier tipo deben ser observados por lo menos una hora después de la administración.<sup>52</sup>

En un consenso de expertos en el manejo de L-Asp para la identificación y manejo de hipersensibilidad por este medicamento, luego de una revisión de los datos publicados disponibles mundiales,<sup>19</sup> se acordó que cuando los pacientes manifiestan una alergia clínica, la preparación debe cambiarse, mientras que si hay alguna duda, debe medirse la actividad.<sup>53</sup> El consenso recomienda que en los pacientes que manifiestan reacciones de hipersensibilidad de grado 1 después de la administración intravenosa es necesario que se monitoree la actividad de L-Asp en tiempo real para identificar la inacti-



vacación silenciosa, si se produce. Por otro lado, en pacientes con grado 2-4, según los criterios del Common Terminology Criteria for Adverse Events v5.0 (CTCAE),<sup>43</sup> tras la administración intravenosa o intramuscular puede indicarse el cambio de L-Asp sin necesidad de pruebas de actividad de L-Asp; además, se recomienda que cuando el paciente manifieste cualquier reacción con la administración intramuscular, debe comprobarse la actividad de L-Asp.<sup>53,54,55</sup>

La vigilancia de L-Asp nativa de *E. coli* debe realizarse después de la primera dosis y después de cada reintroducción y la vigilancia de L-Asp PEG debe realizarse dentro de los 7 días después de la administración. Si el nivel es detectable pero inferior a 0.1 UI/mL, la actividad debe comprobarse de nuevo el día 14 y vigilar las opciones de

tratamiento cuando se produce alguna reacción de hipersensibilidad o cuando hay inactivación silenciosa.<sup>20,56</sup> La **Figura 4** muestra una descripción detallada de las pautas descritas para la identificación y el manejo de la hipersensibilidad clínica y la inactivación silenciosa con preparaciones de L-Asp derivadas de *Escherichia coli* y *Erwinia chrysanthemi*.<sup>19</sup> Para combatir estos efectos de hipersensibilidad los médicos tratantes comúnmente utilizan la premedicación con esteroides o antihistamínicos que pueden reducir los síntomas de hipersensibilidad clínica. Sin embargo, es posible que no prevengan el desarrollo de anticuerpos y esto pueda concluir con la suspensión del tratamiento con L-Asp.<sup>45,53,57</sup> Actualmente las investigaciones se han dirigido a buscar una opción menos inmunogénica para el tratamiento de los pacientes con leucemia linfoblástica aguda.

### Efectos secundarios no relacionados con la hipersensibilidad clínica por L-Asp

Uno de los efectos mostrados de la administración de L-Asp y a la que se le atribuye la causa de efectos adversos es una actividad secundaria de L-glutaminasa;<sup>58,59</sup> esta característica le otorga la capacidad de hidrolizar L-glutamina en ácido L-glutámico y amoníaco.<sup>60,62</sup> El papel de la L-glutaminasa no se comprende completamente y la bibliografía contiene evidencia contradictoria de efectos benéficos y perjudiciales. Chiu y colaboradores<sup>63</sup> reportaron la importancia de la L-glutaminasa para potenciar el efecto antitumoral en las células cancerosas, y algunos otros autores incluso sugieren que es indispensable para la función antitumoral de L-Asp.<sup>64</sup> La función antitumoral L-glutaminasa se explica por el hecho de que la concentración de L-glutamina es esencial para la progresión del ciclo celular de la fase G1 a la fase S.<sup>65,66,67</sup> La L-glutamina es el aminoácido más abundante en la sangre, este aminoácido aporta el grupo amino para muchas de las reacciones dentro de la célula, además de que es la principal forma de transporte de nitrógeno en la sangre.<sup>68</sup> La reducción de las concentraciones de este aminoácido se relaciona con la reducción de la síntesis de varias proteínas importantes, como la albúmina, la insulina, fibrinógeno y proteína C, a lo que pueden atribuirse varios efectos adversos, como hepatotoxicidad, pancreatitis, neurotoxicidad, hiperglucemia,<sup>69,70,71</sup> leucopenia y anomalías de la coagulación en pacientes que reciben tratamiento con L-Asp.<sup>72,73,74</sup>

### OPTIMIZACIÓN DEL TRATAMIENTO CONTRA LA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA CON L-ASP

La L-Asp es necesaria para alcanzar la remisión de los pacientes con leucemia linfoblástica aguda; sin embargo, existe una constante búsqueda de alternativas y estrategias de mejora del tratamiento para evitar los efectos adversos por la

aplicación de este medicamento, así como para optimizarlo, ya sea con nuevas formulaciones que reduzcan la respuesta inmunológica por L-Asp mediante la individualización de la dosis y la vigilancia farmacológica que asegure la eficacia terapéutica.

### Nuevas formulaciones de L-Asp

Las nuevas formulaciones de L-Asp incluyen a la calaspargasa pegol-mkn, la L-Asp de *Erwinia* recombinante y la L-Asp encapsulada en eritrocitos (eripasa); se ha demostrado que pueden tener potencial para su uso en poblaciones adultas con leucemia linfoblástica aguda. Calaspargase pegol-mknl, una enzima conjugada de monometoxi-polietilenglicol con un enlazador de carbonato de succinimidilo a la L-Asp nativa de *E. coli*, fue aprobada por la FDA en diciembre de 2018 como un componente de un tratamiento de múltiples agentes de leucemia linfoblástica aguda pediátrica.<sup>75</sup> Este estudio realizado por la FDA mostró un modelo farmacocinético, en el que el 99% de los pacientes mantuvo una actividad de L-Asp sérica  $\geq 0.1$  UI/mL durante la posinducción con calaspargasa, y el perfil de seguridad fue similar al de pegaspargasa.<sup>76</sup>

En 2021 Lin y colaboradores<sup>77</sup> dieron a conocer los primeros resultados de su estudio de fase 1 de un ER-ASP recombinante (RYLAZE™, asparaginasa *Erwinia chrysanthemi* [recombinante]-rywn) en voluntarios adultos sanos; en los pacientes se encontró como resultado una reducción completa de la Asp y ningún efecto tóxico. ER-ASP se aprobó en junio de 2021 para su administración en pacientes adultos y pediátricos con leucemia linfoblástica aguda que tuvieran hipersensibilidad a la L-Asp de *E. coli*, ER-ASP actualmente se está evaluando en un estudio de fase 2/3 (NCT04145531) como parte del programa de revisión oncológica en tiempo real.

En la actualidad se está realizando un ensayo multicéntrico de fase 2 en los países nórdicos/

bálticos (NOR-GRASPALL 2016), cuyo objetivo es evaluar la seguridad y eficacia de la eriaspasa de acuerdo con el protocolo NOPHO ALL2008 y el estudio piloto ALLTogether. El tratamiento antileucémico en estos protocolos incluye 4-8 dosis de PEG-asp como tratamiento de primera línea. En este estudio se incluyeron 36 niños y 2 adultos, de los que 37 pacientes (97.4%) tenían alergia clínica a L-Asp PEG, de los cuales el 59.5% (n = 22) tuvieron una reacción alérgica grave. Un paciente (3.3%) fue incluido debido a la inactivación silenciosa. Las mediciones de actividad enzimática de L-Asp (AEA) estaban disponibles en todos los pacientes y en ninguno de estos pacientes AEA fue detectable después del tratamiento con L-Asp PEG. En total, se administraron 171 dosis de eriaspasa. De los 36 pacientes, 34 (94.7%) tenían AEA > 100 UI/L y 27 pacientes (71.1%) tenían niveles de AEA > 400 UI/L 14 días después de la primera administración de eriaspasa. Los autores concluyeron que la eriaspasa es una alternativa prometedora a la PEG-asp en caso de hipersensibilidad.<sup>78</sup>

#### Individualización de la dosis de L-Asp

La respuesta de un paciente a L-Asp es multivariable, en función de esto existe el debate sobre si existe una edad máxima para la cual los regímenes de tratamiento pediátrico pueden ser seguros y efectivos,<sup>79</sup> además de la incertidumbre acerca de la tolerabilidad potencial de los regímenes pediátricos. Sin embargo, las pautas de la Red Nacional Integral del Cáncer establecen que la edad por sí sola no es suficiente para determinar la aptitud del paciente para la terapia y, por tanto, los pacientes deben evaluarse individualmente en función de una gama más amplia de factores.<sup>80</sup>

Aunque no se ha determinado definitivamente la concentración sérica óptima para la depleción de Asp, el umbral terapéuticamente adecuado es  $\geq 0.1$  UI/mL.<sup>81</sup> La Asociación

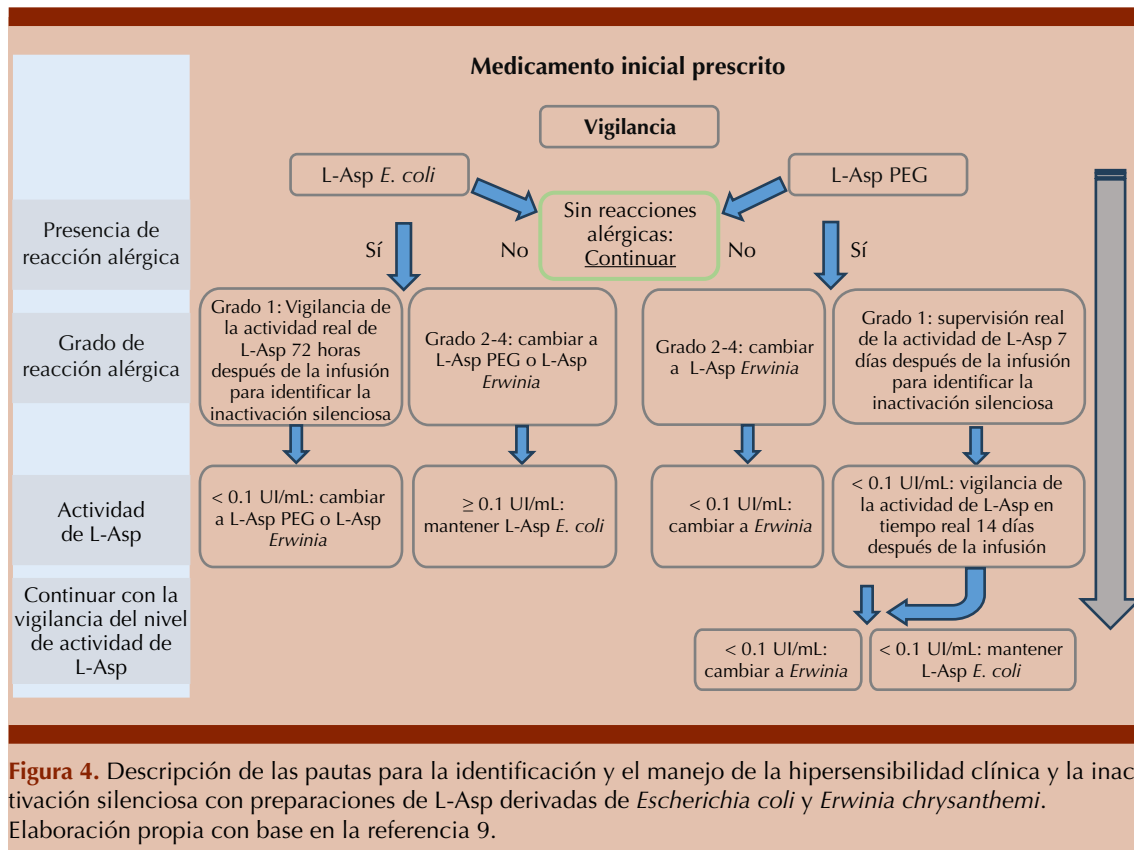
Europea de Hematología desaconseja la administración de antihistamínicos y corticosteroides para prevenir reacciones tóxicas porque tales medidas pueden enmascarar los síntomas clínicos y, por tanto, exponer al paciente al riesgo de concentraciones insuficientes de L-Asp y tener falla terapéutica.<sup>82</sup> Por otro lado, un estudio retrospectivo de Cooper y colaboradores<sup>83</sup> mostró que la premedicación en combinación con el control terapéutico del fármaco demostró un beneficio clínico, además de un ahorro económico en los pacientes.

Todo lo anterior nos lleva a definir que la identificación temprana y precisa de las reacciones de hipersensibilidad son clave para un manejo exitoso de L-Asp. El control del nivel de actividad enzimática de L-Asp sérica y la concentración de Asp determinarán si se alcanzó el objetivo terapéutico y al mismo tiempo si existe alguna inactivación silenciosa,<sup>3</sup> mientras que la generación de anticuerpos anti-L-Asp indicará la posibilidad de que los pacientes manifiesten hipersensibilidad<sup>22</sup> y, en ese caso, optar por un cambio en la preparación de L-Asp. **Figura 4**

#### Farmacocinética y farmacodinamia de L-Asp

Una estrategia para optimizar la seguridad, la tolerabilidad y los beneficios de la L-Asp es la administración de dosis de L-Asp basadas en parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos (PK/PD). Éste es un enfoque que ya se ha investigado ampliamente. En diferentes estudios farmacocinéticos realizados en niños se ha logrado demostrar que características como el peso, la edad y el sexo pueden influir en la modificación de parámetros PK/PD de L-Asp en pacientes con leucemia linfoblástica aguda;<sup>84-87</sup> en este contexto, en pacientes que alcanzan niveles muy altos de actividad de L-Asp, o que tengan decremento en el aclaramiento de L-Asp, debe considerarse la reducción de dosis y, por el contrario, en pacientes en quienes no se alcance un nivel terapéutico de la actividad enzimática





de L-Asp, debería considerarse un incremento de la dosis.

**Consideraciones basadas en el perfil farmacogenético de L-Asp**

Varios rasgos genéticos y polimorfismos se han asociado con anterioridad con la respuesta a la L-Asp en diferentes poblaciones que son tratadas contra la leucemia linfoblástica aguda, lo que sugiere que dichos indicadores pueden ser útiles en la predicción del riesgo y la modulación del tratamiento individualizado. Entre éstos, se demostró que el gen de la subunidad 1 del receptor del ácido glutámico α-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA) (GRIA1) y HLA-DRB1\*0701 están asociados

con la hipersensibilidad por la administración de L-Asp.<sup>88</sup> Las variantes genéticas asociadas con la pancreatitis en niños y adultos jóvenes con leucemia linfoblástica aguda con tratamiento con L-Asp incluyen una variante en el gen CPA2 (rs199695765) que codifica la carboxipeptidasa A2,<sup>89</sup> además de las variantes en los genes MYBBP1A, SPEF2 e IL16, las cuales se asociaron con pancreatitis e hipersensibilidad en niños con leucemia linfoblástica aguda.<sup>90</sup> Faltan estudios que analicen con mayor profundidad las correlaciones de los factores genéticos con la respuesta de la leucemia linfoblástica aguda, las terapias y los resultados de la enfermedad, que además incluyan población de países de medianos y bajos ingresos.

## APLICACIONES EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

A pesar de que existen desafíos para lograr cuantificaciones fiables que tengan algún valor en la práctica clínica, son muchas las ventajas de realizar el seguimiento de la actividad de L-Asp y las concentraciones de Asp en los pacientes en tratamiento.

El objetivo de la terapia con L-Asp es el agotamiento de Asp, por tal motivo la medición de Asp en sangre debería ser la prueba más directa de la eficacia del tratamiento con L-Asp, aunque existen varias limitaciones para cuantificar las concentraciones de Asp que hacen que dicha estrategia sea difícil de llevar a cabo y aplicar en la práctica clínica.

Una vez que se toma la muestra de sangre para la cuantificación de las concentraciones de Asp para el metabolismo *ex vivo* de la Asp, la presencia de L-Asp es el primer obstáculo que debe sortearse, ya que las concentraciones de Asp pueden seguir cambiando por su aún exposición a la L-Asp, por tal motivo, la recolección de las muestras implica la recolección en frío y centrifugación inmediata, extracción de suero y desproteínización/acidificación para inhibir la reacción<sup>96</sup> en un periodo muy limitado de hasta 15 minutos. Por estas razones la evaluación de las concentraciones séricas de Asp es difícil de lograr en la práctica clínica. Aun con los desafíos de llevar a cabo esta estrategia, una de las ventajas es la posibilidad de optimizar los programas de dosificación de diferentes preparaciones de L-Asp, identificando a los pacientes con efectos adversos que pueden continuar su terapia e identificar a los pacientes con inactivación silenciosa.<sup>91</sup>

Diferentes autores han descrito las ventajas que podría tener la aplicación de la vigilancia terapéutica en la práctica clínica. Avramis y colaboradores<sup>92</sup> realizaron un estudio para determinar las diferencias farmacocinéticas en niños con leucemia linfoblástica aguda al recibir

asparaginasa nativa o pegilada de *Escherichia coli*; encontraron que, al explorar la presencia de anticuerpos, el 26% de los pacientes con L-Asp nativa tenían concentraciones altas de anticuerpos, vs solo un 2% de los pacientes que recibieron L-Asp PEG. Además, encontraron que la existencia de anticuerpos se asoció con baja actividad de L-Asp. Estos resultados reflejan la importancia de la vigilancia del medicamento para individualizar el tratamiento haciéndolo más efectivo y reduciendo los efectos adversos que pueden aparecer por la hipersensibilidad producida por la existencia de anticuerpos.

En un estudio realizado por Vrooman y colaboradores<sup>93</sup> se analizaron los resultados de dos grupos de pacientes tratados con *E. coli* nativo, el primero con dosificación individualizada y el otro con dosificación fija. En los pacientes del grupo individualizado con actividad L-Asp se consideraron concentraciones < 0.1 UI/mL como valor limítrofe para ajustar la dosis; a pesar del ajuste de dosis algunos pacientes llegaron a tener inactivación silenciosa y se cambiaron a otra preparación de L-Asp. En el grupo con la dosis fija, solo la preparación se cambió cuando la hipersensibilidad clínica ocurrió. A pesar de esto, los resultados mostraron que los pacientes del grupo con dosificación individualizada tenían significativamente mayor supervivencia libre de eventos a cinco años que los pacientes en el segundo grupo (90 vs 82%, respectivamente).

En un estudio reciente Ceconello y colaboradores<sup>9</sup> demostraron la importancia de medir la actividad farmacológica de L-Asp en pacientes brasileños con leucemia linfoblástica aguda. Ellos incluyeron 262 muestras de suero tomadas 24 y 48 horas después de las infusiones de una preparación de L-Asp. Detectaron que existía un número elevado de pacientes cuya actividad de L-Asp era inferior a 0.1 UI/mL, la cual podía terminar en falla terapéutica. Estos datos destacaron la importancia de vigilar la actividad de la L-Asp.

Un estudio reciente realizado en nuestro grupo de trabajo demostró que la rápida depleción completa de Asp ( $< 0.1 \mu\text{M}$ ) antes de las primeras 24 horas posinfusión de L-Asp puede ser un marcador de riesgo de pancreatitis en pacientes con leucemia linfoblástica aguda en tratamiento.<sup>94</sup>

## CONCLUSIONES

A pesar de que se sabe que L-Asp puede generar efectos adversos en los pacientes a quienes se les administra, la realidad es que es pieza fundamental en los protocolos de tratamiento contra la leucemia linfoblástica aguda. Los avances más recientes en la medicina han evidenciado factores de pronóstico y predictivos en las respuestas a distintos tratamientos médicos, sobre todo de pacientes de alto riesgo que reciben medicamentos altamente tóxicos, como los pacientes pediátricos con cáncer. El éxito del tratamiento en esta clase de pacientes puede estar principalmente influido por la edad, el sexo y su genética. En particular, la variabilidad interindividual juega un papel primordial en la determinación de la eficacia y la seguridad de los medicamentos para tratar su enfermedad, así como en la misma susceptibilidad a la enfermedad y su desarrollo. Afortunadamente, la medicina personalizada ha logrado diseñar estrategias para atender de forma única los padecimientos de cada paciente con base en sus características propias. En este sentido son muchas las ventajas de vigilar la actividad de L-Asp en los pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda, las principales son optimizar los programas de dosificación de diferentes preparaciones de L-Asp, identificando a los pacientes con efectos adversos que pueden continuar su terapia e identificar a aquéllos con inactivación silenciosa. Lograr implementar el enfoque personalizado en la terapia de los pacientes podría verse reflejado en la mejoría de la eficacia del tratamiento y la disminución de efectos adversos.

## Agradecimientos

Los autores agradecemos el apoyo recibido por parte del Conahcyt para la realización de este estudio.

## REFERENCIAS

1. Whiteley AE, Price TT, Cantelli G, Sipkins DA. Leukaemia: a model metastatic disease. *Nat Rev Cancer* 2021; 21 (7): 461-475. doi: 10.1038/s41568-021-00355-z. doi: 10.1038/s41568-021-00355-z.
2. Leukaemia. (s/f). Worldhealthorganization.int. Recuperado el 7 de junio de 2023, de <https://platform.who.int/mortality/themes/theme-details/topics/indicator-groups/indicator-group-details/MDB/leukaemia>.
3. De Moraes SB, De Souza TACB. Human L-asparaginase: Acquiring knowledge of its activation (Review). *Int J Oncol* 2021; 58 (4): 11. doi: 10.3892/ijo.2021.5191.
4. Cooper SL, Brown PA. Treatment of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Clin North Am* 2015; 62 (1): 61-73. doi:10.1016/j.pcl.2014.09.006.
5. Kaushik M, Sinha P, Jaiswal P, Mahendru S, Roy K, Kukreti S. Protein engineering and de novo designing of a biocatalyst. *J Mol Recognit* 2016; 29 (10): 499-503. <https://doi.org/10.1002/jmr.2546>.
6. Viola RE. The ammonia-lyases: enzymes that use a wide range of approaches to catalyze the same type of reaction. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2019; 54 (6): 467-483. <https://doi.org/10.1080/10409238.2019.1708261>.
7. Dingermann T. Recombinant therapeutic proteins: production platforms and challenges. *Biotechnol J* 2008; 3 (1): 90-97. doi: 10.1002/biot.200700214.
8. Avramis VI, Tiwari PN. Asparaginase (native ASNase or pegylated ASNase) in the treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Int J Nanomedicine* 2006; 1 (3): 241-54.
9. Ceconello DK, Magalhães MR, Werlang ICR, Lee MLM, Michalowski MB, Daudt LE. Asparaginase: an old drug with new questions. *Hematol Transfus Cell Ther* 2020; 42 (3): 275-282. doi: 10.1016/j.htct.2019.07.010.
10. Pieters R, Hunger SP, Boos J, Rizzari C, Silverman L, Baruchel A, et al. L-asparaginase treatment in acute lymphoblastic leukemia: a focus on Erwinia asparaginase. *Cancer* 2012; 117 (2): 238-49. doi: 10.1002/cncr.25489.
11. Lang S, Uber. Desamidierung im Tierkörper. *Beitraege zur Chemischen Physiologie und Pathologie* 1904; 190: 5321-345.
12. Clementi A. La desamidation enzymatique de L-asparaginase chez les differentes especes animales et la signification physiologique de sa presence dans l'organisma. *Arch Int Physiol* 1922;19: 369-376.
13. Kidd JG. Regression of transplanted lymphomas induced in vivo by means of normal guinea pigserum. I. course of

- transplanted cancers of various kinds in mice and rats given guinea pig serum, horse serum or rabbit serum. *J Exp Med* 1953; 98: 565-582. doi: 10.1084/jem.98.6.565.
14. Broome JD. Factors which may influence the effectiveness of L-asparaginases as tumor inhibitors. *Br J Canc* 1961; 22: 595-602. doi: 10.1038/bjc.1968.71.
  15. Broome JD. Antilymphoma activity of L-asparaginase in vivo: clearance rates of enzyme preparations from guinea pig serum and yeast in relation to their effect on tumor growth. *J Natl Cancer Inst* 1965; 35: 967-974.
  16. Hill JM, Roberts J, Loeb E, Khan A, MacLellan A, Hill RW. L-asparaginase therapy for leukemia and other malignant neoplasms. Remission in human leukemia. *JAMA* 1967; 202 (9): 882-888.
  17. Oettgen HF, Stephenson PA, Schwartz MK, Leeper RD, Tallai L, Tan CC, et al. Toxicity of *E. coli* L-asparaginase in man. *Cancer* 1970; 25 (2): 253-278. doi: 10.1002/1097-0142(197002)25:2<253::aid-cncr2820250204>3.0.co;2-u.
  18. Salzer WL, Asselin BL, Plourde PV, Corn T, Hunger SP. Development of asparaginase *Erwinia chrysanthemi* for the treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Ann N Y Acad Sci* 2014; 1329: 81-92. doi: 10.1111/nyas.12496.
  19. van der Sluis IM, Vrooman LM, Pieters R, Baruchel A, Escherich G, Goulden N, et al. Consensus expert recommendations for identification and management of asparaginase hypersensitivity and silent inactivation. *Haematologica* 2016; 101 (3): 279-85. doi: 10.3324/haematol.2015.137380.
  20. Panosyan EH, Seibel NL, Martin-Aragon S, Gaynon PS, Avramis IA, Sather H, et al. Asparaginase antibody and asparaginase Aactivity in children with higher-risk acute lymphoblastic leukemia: Children's Cancer Group Study CCG-1961. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004; 26 (4): 217-26.
  21. Burke MJ. How to manage asparaginase hypersensitivity in acute lymphoblastic leukemia. *Future Oncol* 2014; 10 (16): 2615-27. doi: 10.2217/fon.14.138.
  22. Woo MH, Hak LJ, Storm MC, Sandlund JT, Ribeiro RC, Rivera GK, et al. Hypersensitivity or development of antibodies to asparaginase does not impact treatment outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2000; 18 (7): 1525-32. doi: 10.1200/JCO.2000.18.7.1525.
  23. Beckett A, Gervais D. What makes a good new therapeutic L-asparaginase? *World J Microbiol Biotechnol* 2019; 35 (10): 152. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2731-9>.
  24. Szymanska B, Wilczynska-Kalak U, Kang MH, Liem NL, Carol H, Lock RB. Pharmacokinetic modelling of an induction regimen for in vivo combined testing of novel drugs against pediatric acute lymphoblastic leukemia xenografts. *PLoS One* 2012; 7 (3): e33894-e33994. doi: 10.1371/journal.pone.0033894.
  25. Pokrovskaya MV, Pokrovsky VS, Aleksandrova SS, Sokolov NN, Zhdanov DD. Molecular analysis of L-asparaginases for clarification of the mechanism of action and optimization of pharmacological functions. *Pharmaceutics* 2022; 14 (3): 599. doi: 10.3390/pharmaceutics14030599.
  26. Nomme J, Su Y, Konrad M, Lavie A. Structures of apo and product-bound human L-asparaginase: insights into the mechanism of autoproteolysis and substrate hydrolysis. *Biochem* 2012; 51 (34): 6816-6826. doi: 10.1021/bi300870g.
  27. Lubkowski J, Wlodawer A. Structural and biochemical properties of L-asparaginase. *FEBS J* 2021; 288 (14): 4183-4209. doi: 10.1111/febs.16042.
  28. Zhou R, Liang T, Li T, Huang J, Chen C. Possible mechanism of metabolic and drug resistance with L-asparaginase therapy in childhood leukaemia. *Front Oncol* 2023; 13:10700 69. doi: 10.3389/fonc.2023.1070069.
  29. Maese L, Rau RE. Current use of asparaginase in acute lymphoblastic leukemia/lymphoblastic lymphoma. *Front Pediatr* 2022; 10: 902117. doi: 10.3389/fped.2022.902117.
  30. Pagliardi GL, Gabutti V, Gavosto F. Mechanism of action of L-asparaginase on the cell cycle and growth in acute lymphoblastic leukemia. *Acta Haematol* 1973; 50 (5): 257-268. <https://doi.org/10.1159/000208358>.
  31. Egler RA, Ahuja SP, Matloub Y. L-asparaginase in the treatment of patients with acute lymphoblastic leukemia. *J Pharmacol Pharmacother* 2016; 7 (2): 62-71. doi: 10.4103/0976-500X.184769.
  32. Sugimoto K, Suzuki HI, Fujimura T, Ono A, Kaga N, Isobe Y, et al. A clinically attainable dose of L-asparaginase targets glutamine addiction in lymphoid cell lines. *Cancer Sci* 2015; 106 (11): 1534-1543. doi: 10.1111/cas.12807.
  33. Heo YA, Syed YY, Keam SJ. Pegaspargase: A review in acute lymphoblastic leukaemia. *Drugs* 2019; 79 (7): 767-777. doi: 10.1007/s40265-019-01120-1.
  34. Van Trimont M, Peeters E, De Visser Y, Schalk AM, Monde-laers V, De Moerloose B, et al. Novel insights on the use of L-asparaginase as an efficient and safe anti-cancer therapy. *Cancers* 2022; 14 (4): 902. doi: 10.3390/cancers14040902.
  35. Angiolillo AL, Schore RJ, Devidas M, Borowitz MJ, Carroll AJ, Gastier-Foster JM, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of calaspargase pegol *Escherichia coli* L-asparaginase in the treatment of patients with acute lymphoblastic leukemia: results from Children's Oncology Group Study AALL07P4. *J Clin Oncol* 2014; 32 (34): 3874-3882. doi: 10.1200/JCO.2014.55.5763.
  36. Brumano LP, da Silva FVS, Costa-Silva TA, Apolinário AC, Santos JHPM, Kleingesinds EK, et al. Development of L-asparaginase biobetters: Current research status and review of the desirable quality profiles. *Front Bioeng Biotechnol* 2019; 6: 212. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2018.00212>.
  37. Maese L, Rizzari C, Coleman R, Power A, van der Sluis I, Rau RE. Can recombinant technology address asparaginase *Erwinia chrysanthemi* shortages?. *Pediatr Blood Cancer* 2021; 68 (10): e29169. doi: 10.1002/pbc.29169.
  38. Bender C, Maese L, Carter-Febres M, Verma A. Clinical utility of pegaspargase in children, adolescents and young adult patients with acute lymphoblastic leukemia: A review. *Blood Lymphat Cancer* 2021; 11: 25-40. doi: 10.2147/BLCTT.S245210.

39. Mondelaers V, Ferster A, Uyttebroeck A, Brichard B, van der Werff Ten Bosch J, Norga K, et al. Prospective, real-time monitoring of pegylated *Escherichia coli* and *Erwinia asparaginase* therapy in childhood acute lymphoblastic leukaemia and non-Hodgkin lymphoma in Belgium. *Br J Haematol* 2020; 190 (1): 105-114. doi: 10.1111/bjh.16495.
40. Ramya LN, Doble M, Rekha VP, Pulicherla KK. L-Asparaginase as potent anti-leukemic agent and its significance of having reduced glutaminase side activity for better treatment of acute lymphoblastic leukaemia. *Appl Biochem Biotechnol* 2012; 167 (8): 2144-2159. doi: 10.1007/s12010-012-9755-z.
41. Fernandez CA, Stewart E, Panetta JC, Wilkinson MR, Morrison AR, Finkelman FD. Successful challenges using native *E. coli* asparaginase after hypersensitivity reactions to PEGylated *E. coli* asparaginase. *Cancer Chemother Pharmacol* 2014; 73 (6): 1307-1313. doi: 10.1007/s00280-014-2464-2.
42. Haskell CM, Canellos GP, Leventhal BG, Carbone PP, Block JB, Serpick AA, et al. L-asparaginase: therapeutic and toxic effects in patients with neoplastic disease. *N Engl J Med* 1969; 281 (19): 1028-1034. doi: 10.1056/NEJM196911062811902.
43. National Cancer Institute (NCI). Common Terminology Criteria for Adverse Events v5.0 (CTCAE) 2017. [https://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic\\_applications/docs/CTCAE\\_v5\\_Quick\\_Reference\\_8.5x11.pdf](https://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/docs/CTCAE_v5_Quick_Reference_8.5x11.pdf).
44. Shinnick SE, Browning ML, Koontz SE. Managing hypersensitivity to asparaginase in pediatrics, adolescents, and young adults. *J Pediatr Oncol Nurs* 2013; 30 (2): 63-77. doi: 10.1177/1043454212471728.
45. Battistel AP, Rocha BSD, Santos MTD, Daudt LE, Michalowski MB. Allergic reactions to asparaginase: retrospective cohort study in pediatric patients with acute lymphoid leukemia. *Hematol Transfus Cell Ther* 2021; 43 (1): 9-14. doi: 10.1016/j.htct.2019.10.007.
46. Salzer W, Bostrom B, Messinger Y, Perissinotti AJ, Marini B. Asparaginase activity levels and monitoring in patients with acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2018; 59 (8): 1797-1806. doi: 10.1080/10428194.2017.1386305.
47. Tong WH, Pieters R, Kaspers GJ, te Loo DM, Bierings MB, van den Bos C, et al. A prospective study on drug monitoring of PEGasparaginase and *Erwinia asparaginase* and asparaginase antibodies in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2014; 123: 2026-2033. doi: 10.1182/blood-2013-10-534347.
48. Galindo-Rodríguez G, Jaime-Pérez JC, Salinas-Carmona MC, González-Díaz SN, Castro-Corona Á, Cavazos-González R, et al. Do immunoglobulin G and immunoglobulin E anti-l-asparaginase antibodies have distinct implications in children with acute lymphoblastic leukemia? A cross-sectional study. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2017; 39 (3): 202-209. doi: 10.1016/j.bjh.2016.11.006.
49. Siebel C, Lanvers-Kaminsky C, Alten J, Smisek P, Nath CE, Rizzari C, et al. Impact of antibodies against polyethylene glycol on the pharmacokinetics of PEGylated asparaginase in children with acute lymphoblastic leukaemia: A population pharmacokinetic approach. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 2022; 47 (2): 187-198. doi: 10.1007/s13318-021-00741-w.
50. Yen HJ, Chang WH, Liu HC, Yeh TC, Hung GY, Wu KH, et al. Outcomes following discontinuation of *E. coli* L-asparaginase upon severe allergic reactions in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2016; 63 (4): 665-670. doi: 10.1002/psc.25869.
51. Armstrong JK, Hempel G, Koling S, Chan LS, Fisher T, Meiselman HJ, et al. Antibody against poly(ethylene glycol) adversely affects PEG-asparaginase therapy in acute lymphoblastic leukemia patients. *Cancer* 2007; 110 (1): 103-111. doi: 10.1002/cncr.22739.
52. Hunger S. COG Pharmacy Committee. Parental and oral chemotherapy administration guidelines used by the Children's Oncology Group (Version 6). In: *Archives of the Children's Oncology Group*; 2010.
53. Ameen F, Alshehri WA, Al-Enazi NM, Almansob A. L-Asparaginase activity analysis, ansZ gene identification and anti-cancer activity of a new *Bacillus subtilis* isolated from sponges of the Red Sea. *Biosci Biotechnol Biochem* 2020; 84 (12): 2576-2584. doi: 10.1080/09168451.2020.1807310.
54. Juluri KR, Siu C, Cassaday RD. Asparaginase in the treatment of acute lymphoblastic leukemia in adults: current evidence and place in therapy. *Blood Lymphat Cancer* 2022; 12: 55-79. doi: 10.2147/BLCTT.S342052.
55. Bade NA, Lu C, Patzke CL, Baer M, et al. Optimizing pegylated asparaginase use: An institutional guideline for dosing, monitoring, and management. *J Oncol Pharm Pract* 2020; 26 (1): 74-92. doi: 10.1177/1078155219838316.
56. Medawar CV, Mosegui GBG, Vianna CMM, Costa TMAD. PEG-asparaginase and native *Escherichia coli* L-asparaginase in acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents: a systematic review. *Hematol Transfus Cell Ther* 2020; 42 (1): 54-61. doi: 10.1016/j.htct.2019.01.013.
57. Vultaggio A, Perlato M, Nencini F, Vivarelli E, Maggi E, Matucci A. How to prevent and mitigate hypersensitivity reactions to biologicals induced by anti-drug antibodies? *Front Immunol* 2021; 12: 765747. doi: 10.3389/fimmu.2021.765747.
58. Nguyen HA, Su Y, Zhang JY, Antanasijevic A, Caffrey M, Schalk AM, et al. A novel L-asparaginase with low l-glutaminase coactivity is highly efficacious against both T- and B-cell acute lymphoblastic leukemias in vivo. *Cancer Res* 2018; 78 (6): 1549-1560. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-17-2106.
59. Chan WK, Lorenzi PL, Anishkin A, Purwaha P, Rogers DM, Sukharev S, et al. The glutaminase activity of L-asparaginase is not required for anticancer activity against ASNS-negative cells. *Blood* 2014; 123 (23): 3596-3606. doi: 10.1182/blood-2013-10-535112.
60. Sharma A, Kaushik V, Goel M. Insights into the distribution and functional properties of l-asparaginase in the archaeal domain and characterization of *Picrophilus torridus* aspara-

- ginase belonging to the novel family Asp2like1. *ACS Omega* 2022; 7 (45): 40750-40765. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c01127>.
61. Papageorgiou AC, Posypanova GA, Andersson CS, Sokolov NN, Krasotkina J. Structural and functional insights into *Erwinia carotovora* L-asparaginase. *FEBS J* 2008; 275 (17): 4306-4316. doi: 10.1111/j.1742-4658.2008.06574.x.
  62. Krishna M, Nadler SG. Immunogenicity to biotherapeutics - The role of anti-drug immune complexes. *Front Immunol* 2016; 7: 21. doi: 10.3389/fimmu.2016.00021.
  63. Chiu M, Tardito S, Pillozzi S, Arcangeli A, Armento A, Uggeri J, et al. Glutamine depletion by crisantaspase hinders the growth of human hepatocellular carcinoma xenografts. *Br J Cancer* 2014; 111 (6): 1159-1167. <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.425>.
  64. Parmentier JH, Maggi M, Tarasco E, Scotti C, Avramis VI, Mittelman SD. Glutaminase activity determines cytotoxicity of L-asparaginases on most leukemia cell lines. *Leuk Res* 2015; 39 (7): 757-762. doi: 10.1016/j.leukres.2015.04.008.
  65. Yuan L, Sheng X, Willson AK, Roque DR, Stine JE, Guo H, et al. Glutamine promotes ovarian cancer cell proliferation through the mTOR/S6 pathway. *Endocr Relat Cancer* 2015; 22 (4): 577-591. doi: 10.1530/ERC-15-0192.
  66. Zhao JS, Shi S, Qu HY, Keckesova Z, Cao ZJ, Yang LX, et al. Glutamine synthetase licenses APC/C-mediated mitotic progression to drive cell growth. *Nat Metab* 2022; 4 (2): 239-253. doi: 10.1038/s42255-021-00524-2.
  67. He S, Zhang S, Yao Y, Xu B, Niu Z, Liao F, et al. Turbulence of glutamine metabolism in pan-cancer prognosis and immune microenvironment. *Front Oncol* 2022; 12: 1064127. doi: 10.3389/fonc.2022.1064127.
  68. DeBerardinis RJ, Cheng T. Q's next: the diverse functions of glutamine in metabolism, cell biology and cancer. *Oncogene* 2010; 29 (3): 313-324. doi: 10.1038/onc.2009.358.
  69. Nussbaum V, Lubcke N, Findlay R. Hyperammonemia secondary to asparaginase: A case series. *J Oncol Pharm Pract* 2016; 22 (1): 161-164. doi: 10.1177/1078155214551590.
  70. Durden DL, Salazar AM, Distasio JA. Kinetic analysis of hepatotoxicity associated with antineoplastic asparaginases. *Cancer Res* 1983; 43 (4): 1602-1605.
  71. Grigoryan RS, Panosyan EH, Seibel NL, Gaynon PS, Avramis IA, Avramis VI. Changes of amino acid serum levels in pediatric patients with higher-risk acute lymphoblastic leukemia (CCG-1961). *In Vivo* 2004; 18 (2): 107-112.
  72. Homans AC, Rybak ME, Baglini RL, Tiarks C, Steiner ME, Forman EN. Effect of L-asparaginase administration on coagulation and platelet function in children with leukemia. *J Clin Oncol* 1987; 5 (5): 811-817. doi: 10.1200/JCO.1987.5.5.811.
  73. Truelove E, Fielding AK, Hunt BJ. The coagulopathy and thrombotic risk associated with L-asparaginase treatment in adults with acute lymphoblastic leukaemia. *Leukemia* 2013; 27 (3): 553-559. doi: 10.1038/leu.2012.290.
  74. Zalewska-Szewczyk B, Gach A, Wyka K, Bodalski J, Mlynarski W. The cross-reactivity of anti-asparaginase antibodies against different L-asparaginase preparations. *Clin Exp Med* 2009; 9 (2): 113-136. doi: 10.1007/s10238-008-0026-9.
  75. Douer D, Gökbuget N, Stock W, Boissel N. Optimizing use of L-asparaginase-based treatment of adults with acute lymphoblastic leukemia. *Blood Rev* 2022; 53: 100908. doi: 10.1016/j.blre.2021.100908.
  76. Li RJ, Jin R, Liu C, Cao X, Manning ML, Di XM, et al. FDA Approval Summary: Calaspargase pegol-mknl for treatment of acute lymphoblastic leukemia in children and young adults. *Clin Cancer Res* 2020; 26 (2): 328-331. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-1255.
  77. Lin T, Hernandez-Illas M, Rey A, Jenkins J, Chandula R, Silverman JA, et al. A randomized phase I study to evaluate the safety, tolerability, and pharmacokinetics of recombinant *Erwinia asparaginase* (JZP-458) in healthy adult volunteers. *Clin Transl Sci* 2021; 14 (3): 870-879. doi: 10.1111/cts.12947.
  78. Lynggaard LS, Vaitkeviciene G, Langenskiöld C, Lehmann AK, Lähteenmäki PM, Lepik K, et al. Asparaginase encapsulated in erythrocytes as second-line treatment in hypersensitive patients with acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 2022; 197 (6): 745-754. doi: 10.1111/bjh.18152.
  79. Aldoss I, Stein AS. Advances in adult acute lymphoblastic leukemia therapy. *Leuk Lymphoma* 2018; 59 (5): 1033-1050. doi: 10.1080/10428194.2017.1354372.
  80. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®): acute lymphoblastic leukemia (ALL) version 2.2021- September 9, 2021.
  81. Kloos RQH, Pieters R, Jumelet FMV, de Groot-Kruseman HA, van den Bos C, van der Sluis IM. Individualized asparaginase dosing in childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2020; 38 (7): 715-724. doi: 10.1200/JCO.19.02292.
  82. Hijiya N, van der Sluis IM. Asparaginase-associated toxicity in children with acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2016; 57 (4): 748-757. doi: 10.3109/10428194.2015.1101098.
  83. Cooper SL, Young DJ, Bowen CJ, Arwood NM, Poggi SG, Brown PA. Universal premedication and therapeutic drug monitoring for asparaginase-based therapy prevents infusion-associated acute adverse events and drug substitutions. *Pediatr Blood Cancer* 2019; 66 (8): e27797. doi: 10.1002/pbc.27797.
  84. Sassen SD, Mathôt RA, Pieters R, Kloos R, et al. Population pharmacokinetics of intravenous *Erwinia asparaginase* in pediatric acute lymphoblastic leukemia patients. *Haematologica* 2017; 102 (3): 552-561. doi: 10.3324/haematol.2016.149195.
  85. Würthwein G, Lanvers-Kaminsky C, Siebel C, Gerß J, Möricke A, Zimmermann M, et al. Population pharmacokinetics of PEGylated asparaginase in children with acute lymphoblastic leukemia: Treatment phase dependency and predictivity in case of missing data. *Eur J Drug Me-*

- tab Pharmacokinet 2021; 46 (2): 289-300. doi: 10.1007/s13318-021-00670-8.
86. Li Y, Meng Q, Yang M, Liu D, Hou X, Tang L, et al. Current trends in drug metabolism and pharmacokinetics. Acta Pharm Sin B 2019; 9 (6): 1113-1144. doi: 10.1016/j.apsb.2019.10.001.
  87. Lin T, Dumas T, Kaullen J, Berry NS, Choi MR, Zomorodi K, et al. Population pharmacokinetic model development and simulation for recombinant *Erwinia asparaginase* produced in *Pseudomonas fluorescens* (JZP-458). Clin Pharmacol Drug Dev 2021; 10 (12): 1503-1513. doi: 10.1002/cpdd.1002.
  88. Mei L, Ontiveros EP, Griffiths EA, Thompson JE, Wang ES, Wetzler M. Pharmacogenetics predictive of response and toxicity in acute lymphoblastic leukemia therapy. Blood Rev 2015; 29 (4): 243-249. doi: 10.1016/j.blre.2015.01.001.
  89. Liu C, Yang W, Devidas M, Cheng C, Pei D, Smith C, et al. Clinical and genetic risk factors for acute pancreatitis in patients with acute lymphoblastic leukemia. J Clin Oncol 2016; 34 (18): 2133-2140. doi: 10.1200/JCO.2015.64.5812.
  90. Plourde PV, Jeha S, Hijiya N, Keller FG, Silverman LB, Rheingold SR, et al. Safety profile of asparaginase *Erwinia chrysanthemi* in a large compassionate-use trial. Pediatr Blood Cancer 2014; 61 (7): 1232-1238. doi: 10.1002/pbc.24938.
  91. Lanvers-Kaminsky C, Ruffer A, Würthwein G, Gerss J, Zucchetti M, Ballerini A, et al. Therapeutic drug monitoring of asparaginase activity-method comparison of MAAT and AHA test used in the International AIEOP-BFM ALL 2009 Trial. Ther Drug Monit 2018; 40 (1): 93-102. doi: 10.1097/FTD.0000000000000472.
  92. Avramis VI, Sencer S, Periclou AP, Sather H, Bostrom BC, Cohen LJ, et al. A randomized comparison of native *Escherichia coli* asparaginase and polyethylene glycol conjugated asparaginase for treatment of children with newly diagnosed standard-risk acute lymphoblastic leukemia: a Children's Cancer Group study. Blood 2002; 99 (6): 1986-1994. doi: 10.1182/blood.v99.6.1986.
  93. Vrooman LM, Stevenson KE, Supko JG, O'Brien J, Dahlberg SE, Asselin BL, et al. Postinduction dexamethasone and individualized dosing of *Escherichia coli* L-asparaginase each improve outcome of children and adolescents with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia: Results from a randomized study—Dana-Farber Cancer Institute. J Clin Oncol 2013; 31 (9): 1202-10. doi: 10.1200/JCO.2012.43.2070.
  94. Gándara-Mireles JA, Lares-Asseff I, Reyes Espinoza EA, Loera Castañeda V, Grijalva Avila JC, Villanueva Fierro I, et al. Rapid asparagine depletion as a possible risk marker for pancreatitis in children with acute lymphoblastic leukemia under treatment with L-asparaginase: case report from five patients. Biomed J Sci Tech Res 2023; 50 (4): 41929-41934.
  95. Erenler SO, Geckil H. Effect of vitreoscilla hemoglobin and culture conditions on production of bacterial L-asparaginase, an oncolytic enzyme. Appl Biochem Biotechnol 2014; 173 (8): 2140-2151. doi: 10.1007/s12010-014-1016-x.
  96. Radadiya A, Zhu W, Coricello A, Alcaro S, Richards NGJ. Improving the treatment of acute lymphoblastic leukemia. Biochemistry 2020; 59 (35): 3193-3200. doi: 10.1021/acs.biochem.0c00354.
  97. Wang N, Ji W, Wang L, Wu W, Zhang W, Wu Q, et al. Overview of the structure, side effects, and activity assays of L-asparaginase as a therapy drug of acute lymphoblastic leukemia. RSC Med Chem 2022; 13 (2): 117-128.

doi.org/10.24245/rev\_hematol.v24i3.9121

# Linfoma no Hodgkin de células T/NK nasal

## Nasal natural killer/T cell lymphoma.

Georgina Rodríguez Miramontes,<sup>1</sup> Eduardo Rafael Calderón Quiroz,<sup>4</sup> Frida Fernanda Luna De la Sancha,<sup>1</sup> Norberto Vásquez Guzmán,<sup>2</sup> José Samuel Almeida Navarro<sup>3</sup>

### Resumen

**ANTECEDENTES:** El linfoma de células T/natural killer (NK) es un subtipo agresivo y poco común del linfoma no Hodgkin que ocurre de manera predominante en lugares extranodales.

**CASO CLÍNICO:** Paciente femenina de 28 años con linfoma de células T/NK nasal. La manifestación inicial fue epistaxis y obstrucción nasal. Se encontró una tumoración nasal de la que se tomó biopsia. El análisis inmunohistoquímico mostró CD45 P63 t extraganglionar, CD45 positivo, ki67 40%. El aspirado de médula ósea demostró evidencia de infiltración.

**CONCLUSIONES:** El linfoma extranodal de células T/NK es un tipo de afección oncológica extremadamente rara, representa un reto diagnóstico, por lo que ante la sospecha clínica y alteraciones paraclínicas deberán obtenerse estudios de imagen de extensión y realizar a la brevedad el análisis inmunohistoquímico para categorizar adecuadamente a los pacientes y otorgar el tratamiento adecuado.

**PALABRAS CLAVE:** *Natural killer*; linfoma de células T/NK; tumor nasal; inmunohistoquímica.

### Abstract

**BACKGROUND:** Natural killer (NK)/T-cell lymphoma is a rare, aggressive subtype of non-Hodgkin lymphoma (NHL) that occurs predominantly in extranodal sites.

**CLINICAL CASE:** A 28-year-old female patient with nasal T/NK cell lymphoma. The initial manifestations were epistaxis and nasal obstruction. A nasal tumor was found and a biopsy was performed. The immunohistochemistry showed CD45 P63 t extranodal, CD45 positive, ki67 40%. The bone marrow aspiration demonstrated evidence of infiltration.

**CONCLUSIONS:** Extranodal T/NK cell lymphoma is an extremely rare oncological condition, posing a diagnostic challenge. Therefore, in the presence of clinical suspicion and paraclinical abnormalities, imaging studies for staging and prompt immunohistochemical analysis should be obtained to accurately categorize patients and provide appropriate treatment.

**KEYWORDS:** Natural killer; NK T-cell lymphoma; Nasal tumor; Immunohistochemistry.

<sup>1</sup> Médico residente, Servicio de Medicina Interna.

<sup>2</sup> Médico adjunto, Servicio de Hematología.

<sup>3</sup> Médico adjunto, Servicio de Anatomopatología.

Hospital Civil Dr. Antonio González Guevara, Tepic, Nayarit, México.

<sup>4</sup> Médico residente, Servicio de Dermatología, Hospital Regional Dr. Valentín Gómez Farías, ISSSTE, Zapopan, Jalisco, México.

**Recibido:** septiembre 2023

**Aceptado:** octubre 2023

### Correspondencia

Georgina Rodríguez Miramontes  
georgina.rdzm@gmail.com

**Este artículo debe citarse como:** Rodríguez-Miramontes G, Calderón-Quiroz ER, Luna-De la Sancha FF, Vásquez-Guzmán N, Almeida-Navarro JS. Linfoma no Hodgkin de células T/NK nasal. Hematol Mex 2023; 24 (3): 163-168.



## ANTECEDENTES

El linfoma de células T/*natural killer* (NK) es un subtipo agresivo y poco común del linfoma no Hodgkin que ocurre de manera predominante en lugares extranodales; afecta primordialmente la cavidad nasal y los senos paranasales, pudiendo afectar la piel, las vías respiratorias, el tubo gastrointestinal y los testículos;<sup>1</sup> su causa es desconocida, pero existe una importante asociación con el virus de Epstein-Barr.

Entre los linfomas no Hodgkin están los linfomas T/NK tipo nasal. La denominación nasal hace referencia a su manifestación medio facial, que es la más común, constituyendo una masa en fosa nasal; con clínica de obstrucción en etapas iniciales presenta síntomas inespecíficos simulando un probable cuadro de sinusitis, por lo cual dificulta su diagnóstico y éste suele ser en etapas avanzadas.<sup>2</sup>

En cuanto a la epidemiología, el linfoma extraganglionar de células NK-t representa menos del 10% de todos los casos de linfoma no Hodgkin y el 0.2% de las neoplasias; se reporta mayor incidencia en población asiática, en adultos entre 50 y 60 años, con ligera preferencia por el sexo masculino.<sup>3</sup>

En cuanto a la prevalencia en México no existen datos epidemiológicos del registro de casos; se sugiere también que sea una enfermedad infra-diagnosticada y no clasificada.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS 2002), la variedad más frecuente es el linfoma de células T/NK tipo nasal; se caracteriza por infiltrado de células linfoides atípicas cuyo tamaño varía desde células pequeñas hasta células grandes de aspecto blástico y pleomórfico, frecuentemente muestran angiocentricidad, angioinvasión y necrosis coagulativa.<sup>4</sup>

Los signos y síntomas iniciales del linfoma extranodal T/NK suelen localizarse en la región nasal e incluyen obstrucción nasal y rinorrea crónica, con perforación del tabique nasal (hasta en un 40% de los casos) y edema del paladar blando o duro causado por la formación de una necrosis profunda y ulceración en esta zona, que destruye los tejidos del paladar y, en ocasiones, puede generar comunicación oronasal.<sup>5</sup> Los síntomas B (fiebre, pérdida de peso, sudores nocturnos y anemia) se reportan en ocasiones y generalmente se detectan en etapas avanzadas.

No existe un tratamiento estandarizado contra este tipo de linfomas; suelen ser tratados con el régimen quimioterapéutico CHOP (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisolona) y antraciclinas. La radioterapia ha mostrado resultados cuando la neoplasia se encuentra limitada. Recientemente se demostró que otros esquemas como el SMILE (dexametasona, ifosfamida, metotrexato, L-asparaginasa y etopósido), DDGP (dexametasona, cisplatino, gemcitabina y PEG-asparaginasa) han demostrado menor toxicidad, mayor supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global. El trasplante autólogo de células progenitoras hemopoyéticas (CPH) muestra eficacia prometedora como consolidación en primera línea; sin embargo, aún es objeto de debate, sobre todo para los estadios tempranos I y II.<sup>6,7</sup>

Los factores de mal pronóstico se asocian con la variabilidad genética; sin embargo, la supervivencia es inferior a 5 meses.

## CASO CLÍNICO

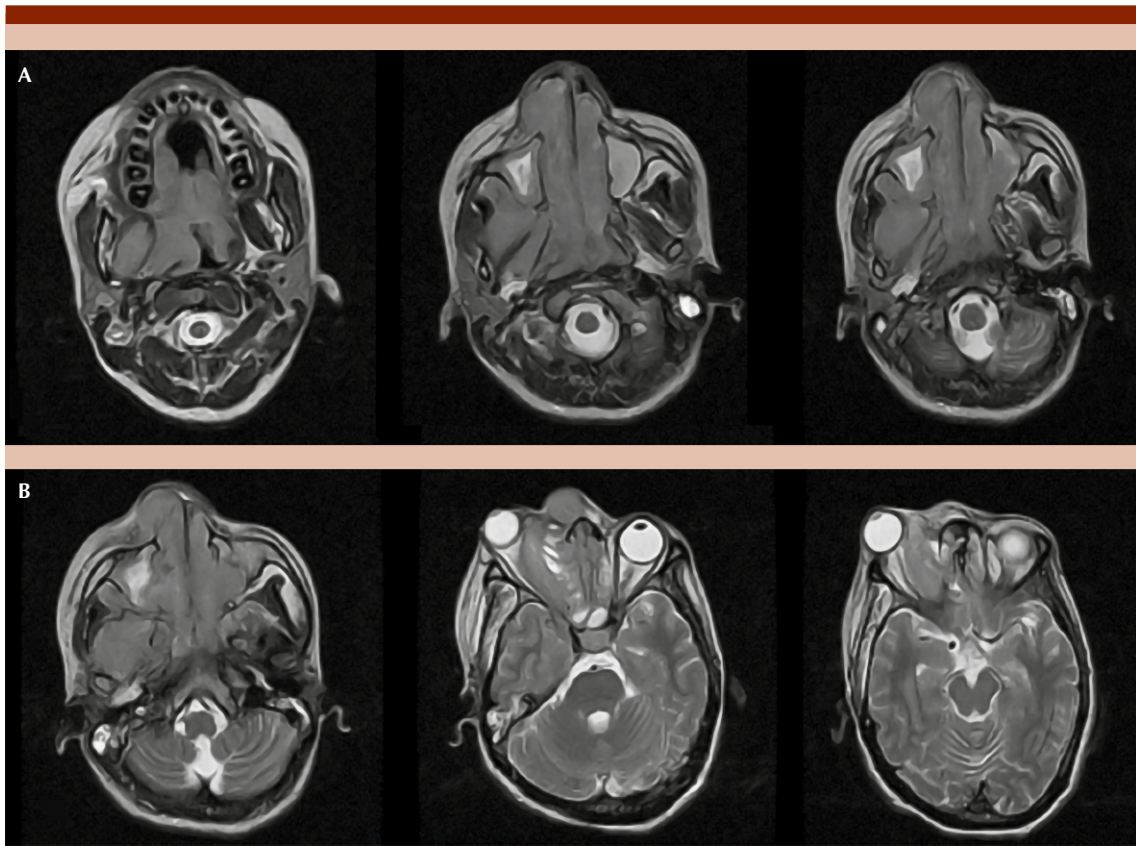
Paciente femenina de 28 años de etnia wixarika que inició con epistaxis y tumoración en la fosa nasal derecha hasta padecer proptosis ocular y pérdida de la visión (**Figura 1**). La resonancia magnética de corte axial (**Figura 2**) mostró una



**Figura 1.** Lesiones destructivas de la línea media: lesión ulceronecrótica en la fosa nasal derecha, el paladar duro y proptosis ocular derecha.

tumoración en ambas fosas nasales y la región maxilar derecha de características infiltrativas con invasión al globo ocular derecho y destrucción de tejidos periorbitarios. Se realizó toma de biopsia del paladar y las fosas nasales. La biopsia de paladar macroscópicamente no mostró características de malignidad. La biopsia de paladar, correspondiente a dos fragmentos irregulares, de tejido marrón claro de consistencia blanda y que medían el mayor 0.6 x 0.5 x 0.4 cm y el menor 0.4 x 0.3 x 0.3 cm. Se incluyeron en su totalidad para su correspondiente análisis interpretativo. En los cortes histológicos no se identificó órgano, pero se observó una proliferación neoplásica de células dispuestas en patrón difuso de tamaño intermedio a grande, basófilas y discohesivas de aspecto linfoide e invasión vascular con

figuras de mitosis atípicas. Ante los hallazgos histopatológicos identificados en tinción con hematoxilina y eosina se decidió la realización del panel de inmunohistoquímica correspondiente a las reacciones de inmunohistoquímica mostradas en el **Cuadro 1**. En conjunto, el estudio histopatológico y la expresión celular por inmunohistoquímica confirmaron el diagnóstico de linfoma extranodal T/NK de tipo nasal. En el aspirado de médula ósea se evidenció infiltración de la enfermedad. La paciente inició quimioterapia con esquema CHOP. Se realizaron 23 sesiones de radioterapia con acelerador lineal en la región nasoorbitaria. Mostró disminución de la tumoración. Completó 3 sesiones de CHOP. La paciente no regresó para continuar con su tratamiento. Actualmente se desconoce su es-



**Figura 2.** Resonancia magnética que muestra diferentes cortes axiales. **A.** T2. **B.** T1. Lesión tipo heterogénea que condiciona efecto de masa con proptosis y moldeamiento del globo ocular derecho, remodelación de las estructuras óseas, desplazamiento del resto de las estructuras musculares extraoculares, el nervio óptico y la glándula lacrimal, con extensión al espacio masticatorio derecho con infiltración de los músculos pterigoideos.

tado actual, se presume y se estima su posible fallecimiento debido al estado y la fase avanzada en la que se encontraba.

## DISCUSIÓN

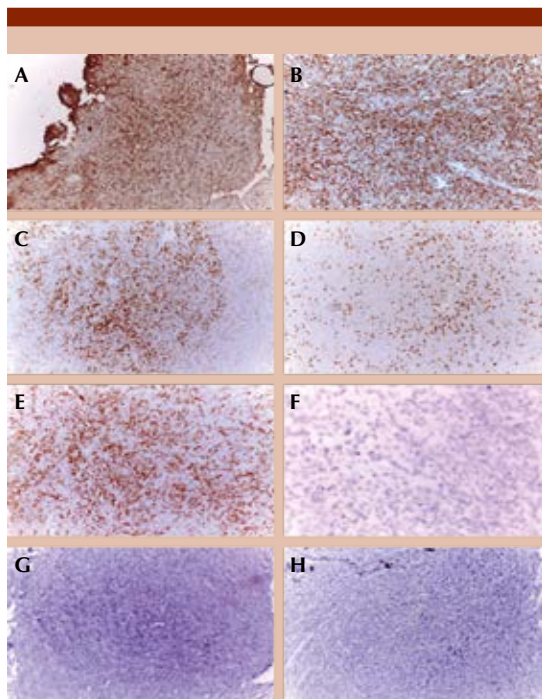
El linfoma extranodal de células NK/T tipo nasal es una enfermedad rara y de difícil diagnóstico que corresponde aproximadamente al 1.5% de los linfomas no Hodgkin; su origen no es claro, pero hay asociación con el virus de Epstein-Barr; su manifestación clínica es variable y poco específica, pudiendo aparecer obstrucción

nasal, epistaxis, lesiones necrosantes de nariz o paladar, imitar trastornos nasosinuales, infecciones fúngicas o bacterianas, enfermedades granulomatosas y otras neoplasias malignas, lo que genera retraso en su diagnóstico.

Junto a las células tumorales puede haber células inflamatorias agregadas, simulando procesos infecciosos; además, se encuentra destrucción de vasos, por lo que suele confundirse con vasculitis, por lo que ante las características histopatológicas el estudio inmunohistoquímico es fundamental para el diagnóstico preciso, en

**Cuadro 1.** Panel de inmunohistoquímica

Reacción de inmunohistoquímica	Interpretación
CD45	Positivo en células neoplásicas
CD4	Positivo en células neoplásicas
CD5	Positivo en células neoplásicas
CD8	Positivo en células neoplásicas
CD56	Positivo en células neoplásicas
CKAE1/AE3	Negativo en células neoplásicas
P16	Negativo en células neoplásicas
P53	Negativo en células neoplásicas



**Figura 3.** Reacciones de inmunohistoquímica presentes **A.** CD45. **B.** CD4. **C.** CD5. **D.** CD8. **E.** CD56. **F.** CKAE1/AE3. **G.** P16. **H.** P53.

el que puede encontrarse positividad para marcadores de los linfocitos NK, como CD2, CD3 citoplasmático, CD7, CD43, CD45RO y CD56, moléculas citotóxicas como TIA-1, granzima B y perforina.

Es característico que esté localizado en la línea medial de la vía aérea digestiva superior, aunque puede diseminarse a varios sitios; es más frecuente la contigüidad afectando los senos paranasales, las órbitas oculares, la piel circundante, el tubo gastrointestinal y los ganglios cervicales; el daño de la médula ósea es muy infrecuente, pero deberá realizarse aspirado medular para descartarlo.<sup>8,9</sup>

Nuestra paciente comenzó con síntomas de obstrucción nasal acompañados de epistaxis, por lo que recibió múltiples tratamientos sin alivio real con progresión hasta un proceso obstructivo importante, que generó proptosis ocular, lo que la llevó a buscar atención médica especializada; sin embargo, al momento de su atención y realizar estudio de gabinete de extensión se observó una importante masa tumoral ocupativa a nivel craneofacial, por lo que se decidió realizar estudio histopatológico de la misma; sin embargo, como se comenta en la bibliografía, en muchas ocasiones incluso el estudio histopatológico no es concluyente y tras realizar nueva biopsia incisional se logró observar células malignas, con reporte inmunohistoquímico concordante con linfoma extranodal de células T/NK de tipo nasal, pudiendo recibir tratamiento quimio-radioterapéutico; sin embargo, por la agresividad del mismo tras establecer el diagnóstico y la pérdida de comunicación por falta de seguimiento de la paciente, sospechamos de un desenlace fatal.

### CONCLUSIONES

El linfoma extranodal de células T/NK es un tipo de afección oncológica extremadamente rara, sobre todo en nuestro medio representa un reto diagnóstico. Establecer el diagnóstico

puede llegar a ser complicado debido a los diagnósticos diferenciales, por lo que ante la sospecha clínica y alteraciones paraclínicas deberá tenerse en mente el diagnóstico y, de esta manera, obtener estudios con cultivos especiales, estudios de imagen de extensión y, de ser posible, realizar a la brevedad el estudio histopatológico; sin embargo, en múltiples ocasiones éste puede resultar negativo a malignidad por la presencia de necrosis, por lo que debe considerarse el requerimiento de múltiples muestras; una vez obtenido el reporte, siempre será imperativo solicitar estudios de inmunohistoquímica para categorizar de manera apropiada a los pacientes y otorgar lo antes posible la terapéutica más adecuada según las características reportadas.

## REFERENCIAS

1. Aozasa K, Takakuwa T, Hongyo T, Yang W. Nasal NK/T-cell lymphoma: Epidemiology and pathogenesis. *Int J Hematol* 2008; 87: 110-7. doi: 10.1007/s12185-008-0021-7.
2. Valderrama E, Bracho G, Hernández A, Taylor LE, et al. Linfoma no Hodgkin de células grandes inmunofenotipo T/NK extraganglionar de tipo nasal (granuloma letal de la línea media). A propósito de un caso. *Dialnet* 2013.
3. Liu J, He Z, Xie Y, Fang K, et al. Nasal natural killer/T cell lymphoma with cutaneous involvement: Case report and Chinese literature review reported in China mainland. *J Dermatol* 2003; 30: 735-741. doi: 10.1111/j.1346-8138.2003.tb00469.x.
4. Velázquez-Arenas OT, Vázquez-Martínez N, Méndez-Olvera O, Barboza-Quintana M, Gómez, Ocampo-Candiani J. Linfoma de células T/NK extranodal tipo nasal. *Actas Dermosifiliogr* 2008; 99: 316-317. DOI: 10.1016/S0001-7310(08)74688-X.
5. Saavedra Ramírez JD. Linfoma nasal de células T/natural killer extranodal refractario mal diagnosticado, tratado de manera exitosa. *Case Rep Oncol* 2017; 10: 1092-1097. doi: 10.1159/000484583.
6. Yamaguchi M, Suzuki S, Oguchi M. Advances in the treatment of extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type. *Blood* 2018; 131: 2528-2540. doi: 10.1182/blood-2017-12-791418.
7. Pertiné B, Milone G, Ávila J, Muratore A, et al. Linfoma no Hodgkin T/NK de nariz. *Revista Hematología* 2022; 26 (2): 107-110. doi.org/10.48057/hematologa.v26i2.478.
8. De Jesús Vega-González MT, Avilés-Salas A, Pérez-Martínez R, Orozco-Anahuati AP. Linfoma extranodal de células T/ NK tipo nasal. Presentación de un caso clínico. *Revi Centro Dermatológico Pascua* 2017; 26 (2): 54-59.
9. Sosa MA, Costra C, Villafaña V, González Macchi ME. Linfoma extranodal de células NK/T tipo nasal. *Rev Hospital Privado de Comunidad* 2022; 23 (1): 29-32.

doi.org/10.24245/rev\_hematol.v24i3.8788

## Leucemia de linfocitos grandes tipo NK en un adulto joven

### NK-type large lymphocyte leukemia in a young adult.

Frania Norzagaray Orduño,<sup>1</sup> Lluvia Sugey Sosa Quintero,<sup>2</sup> Benjamín Rubio Jurado,<sup>3</sup> Diana Alonso Gálvez,<sup>1</sup> Jesús Manuel Ramírez Acuña,<sup>1</sup> Aníbal Sánchez Soltero,<sup>1</sup> Aimee Amairani Coronado Rosales,<sup>1</sup> Gerardo García Magaña,<sup>1</sup> Jackeline Anaya Casillas,<sup>1</sup> María Fernanda Arguelles Espinoza,<sup>1</sup> Marlene Imelda Martínez Vivanco,<sup>1</sup> Jorge Daniel Maldonado Gómez,<sup>4</sup> Andrea Balmaceda Moreno,<sup>4</sup> Marco Antonio Bernal González,<sup>4</sup> Ivan Martínez Lagunes,<sup>4</sup> Daniel Alejandro Trejo Chavira,<sup>4</sup> José Israel Soto González,<sup>4</sup> José Antonio Osuna Díaz,<sup>2</sup> Brenda Leticia Rojas Aguilar<sup>4</sup>

#### Resumen

**ANTECEDENTES:** La leucemia agresiva de células NK es un trastorno linfoproliferativo con alta implicación de la infección por virus de Epstein-Barr en su patogénesis, con mayor incidencia en la población asiática y adultos jóvenes. Es de manifestación clínica aguda y agresiva, caracterizada por síntomas B, hepatoesplenomegalia, linfadenopatía y coagulación intravascular diseminada (CID). El diagnóstico se basa en las características celulares y evolución clínica; su pronóstico es sombrío, con mediana de supervivencia de dos meses. En la médula ósea se encuentran células de tamaño intermedio a grande, con citoplasma basófilo, con vacuolas, núcleo muy irregular, cromatina abierta y nucléolos prominentes. El inmunofenotipo es: CD2+, CD16+, CD56+, CD3-, CD4-, CD7-, CD8-. El tratamiento se basa en pequeños ensayos clínicos, con mejores resultados con esquemas como SMILE (dexametasona, metotrexato, ifosfamida, etopósido y L-asparaginasa). El trasplante alogénico de células hematopoyéticas es el mejor tratamiento, con supervivencia a 2 años del trasplante en un 38% vs 0% en los que no reciben trasplante.

**CASO CLÍNICO:** Paciente masculino de 23 años de edad con fiebre y diaforesis de aparición nocturna, pérdida de peso de 16 kg en 4 meses, dolor abdominal de predominio en el cuadrante superior izquierdo y debilidad de las extremidades que dificultaba la marcha, en quien se diagnosticó leucemia de células NK.

**CONCLUSIONES:** La leucemia de células NK es una enfermedad infrecuente en nuestro medio. Las características clínicopatológicas son variables. El diagnóstico se complica al carecer de un inmunomarcaje y cariotipo específico.

**PALABRAS CLAVE:** Leucemia agresiva de células NK; infección por virus de Epstein-Barr; coagulación intravascular diseminada; dexametasona; metotrexato; ifosfamida; etopósido; L-asparaginasa; adulto joven.

#### Abstract

**BACKGROUND:** Aggressive NK cell leukemia is a lymphoproliferative disorder with high involvement of Epstein-Barr virus infection in its pathogenesis, with a higher incidence in the Asian population and young adults. It has an acute and aggressive clinical presentation, characterized by B symptoms, hepatosplenomegaly, lymphadenopathy, and disseminated intravascular coagulation. Diagnosis is based on cellular characteristics, clinical course, and poor prognosis, with a median survival of 2 months. Intermediate to large cells with basophilic cytoplasm, vacuoles, and nuclei are found in the bone marrow, irregular, open chromatin and prominent nucleoli. Immunophenotype: CD2+, CD16+, CD56+, CD3-, CD4-, CD7-, CD8-. Treatment is based on small clinical trials, with better results with regimens such as SMILE (dexamethasone, methotrexate, ifosfamide, etoposide, and L-asparaginase). Allogeneic hematopoietic cell transplanta-

<sup>1</sup> Residente del último grado de Hematología.

<sup>2</sup> Médico no familiar de Hematología adscrito al Departamento de Hematología.

<sup>3</sup> Médico no familiar de Hematología, adscrito y jefe del Departamento-Servicio de Hematología.

<sup>4</sup> Residente de segundo grado de Hematología. Hospital de Especialidades núm. 175, Centro Médico Nacional de Occidente, Guadalajara, Jalisco, México.

**Recibido:** septiembre 2023

**Aceptado:** octubre 2023

#### Correspondencia

Frania Norzagaray Orduño  
residenciahematologia@gmail.com  
franianzay@gmail.com

#### Este artículo debe citarse como:

Norzagaray-Orduño F, Sosa-Quintero LS, Rubio-Jurado B, Alonso-Gálvez D, Ramírez-Acuña JM, Sánchez-Soltero A, Coronado-Rosales AA, García-Magaña G, Anaya-Casillas J, Arguelles-Espinoza MF, Martínez-Vivanco MI, Maldonado-Gómez JD, Balmaceda-Moreno A, Bernal-González MA, Martínez-Lagunes I, Trejo-Chavira DA, Soto-González JI, Osuna-Díaz JA, Rojas-Aguilar BL. Leucemia de linfocitos grandes tipo NK en un adulto joven. Hematol Mex 2023; 24 (3): 169-173.

tion is the best treatment, showing a 2-year survival after the transplant of 38% vs 0% in those who did not receive a transplant.

**CLINICAL CASE:** A 23-year-old male patient with fever and diaphoresis of nocturnal onset, weight loss of 16 kg in 4 months, abdominal pain predominantly in the left upper quadrant and weakness of the extremities that made walking difficult, in whom NK cell leukemia was diagnosed.

**CONCLUSIONS:** NK cell leukemia is a rare disease in our environment. The clinicopathological characteristics are variable. Diagnosis is complicated by the lack of specific immunolabeling and karyotype.

**KEYWORDS:** Aggressive NK cell leukemia; Epstein-Barr virus infection; Disseminated intravascular coagulation; Dexamethasone; Methotrexate; Ifosfamide; Etoposide; L-asparaginase; Young adult.

## ANTECEDENTES

La leucemia de linfocitos granulares grandes y células NK es una enfermedad rara y fulminante; su diagnóstico y tratamiento son un desafío. Tiene mayor incidencia en la población asiática y en población joven, con mediana de edad de 40 años.<sup>1</sup>

La manifestación clínica más común es con fiebre, pérdida de peso, hepatoesplenomegalia, linfadenopatía y en algunos casos con coagulopatía intravascular diseminada. Es una proliferación anormal de linfocitos que expresan un inmunofenotipo característico de células NK: CD3-/CD56+/CD16+ y se ha asociado con la infección por el virus de Epstein-Barr.<sup>2,3</sup> A pesar de la quimioterapia intensiva, tiene un pronóstico sombrío, con mediana de supervivencia de menos de dos meses.<sup>3</sup>

Las características morfológicas de estas células son: tamaño intermedio a grande, con citoplasma basófilo, puede tener vacuolas, con un núcleo muy irregular, con cromatina abierta y nucléolos prominentes.<sup>4</sup>

El tratamiento se basa en pequeños ensayos clínicos y se han visto mejores resultados con los esquemas como SMILE (dexametasona, metotrexato, ifosfamida, etopósido y L-asparaginasa), AspaMetDex (L-asparaginasa, metotrexato y dexametasona) o VIDL (etopósido, ifosfamida, dexametasona y L-asparaginasa).<sup>5</sup> El trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas parece ser el tratamiento con mejores resultados en estos pacientes, mostrando mejor supervivencia a 2 años después del trasplante hasta en un 38%, a diferencia del 0% de los que no recibieron trasplante.<sup>6</sup>

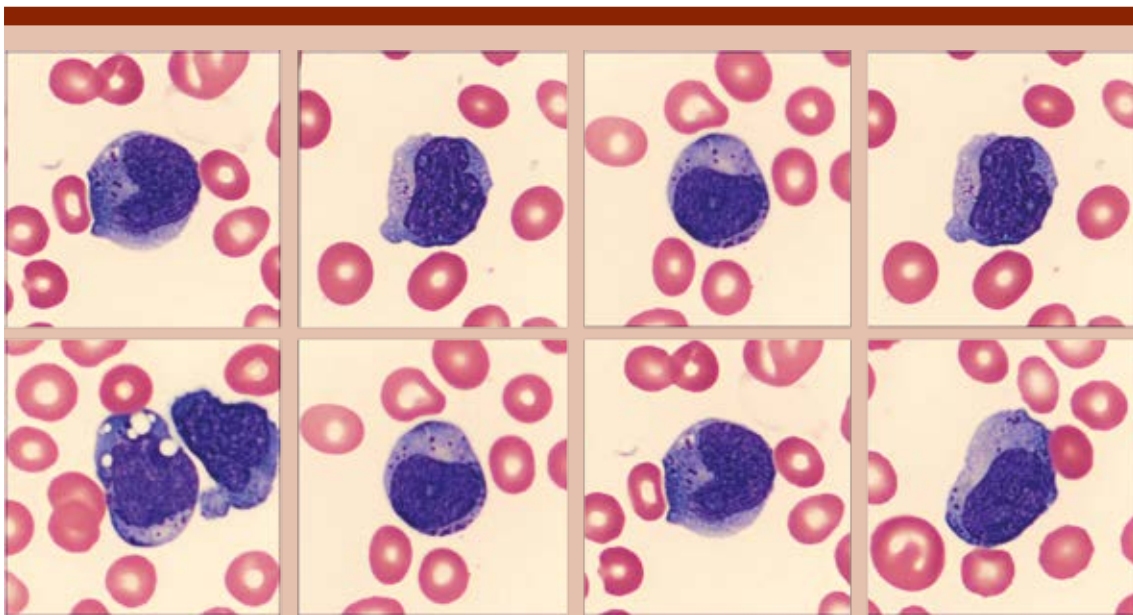
## CASO CLÍNICO

Paciente masculino de 23 años de edad, originario de Colima, Colima. Uso de cristal en una ocasión, enfermedad por reflujo desde los 18 años y exposición a fertilizantes y solventes por 3 años. En julio de 2021 inició con fiebre y diaforesis de aparición nocturna, pérdida de peso de 16 kg en 4 meses, dolor abdominal de predominio en el cuadrante superior izquierdo y debilidad de las extremidades que dificultaba la marcha. A la exploración física se detectó

esplenomegalia, adenopatías cervicales bilaterales y axilar derecha. La citometría hemática indicó hemoglobina de 7 g/dL, cuenta leucocitaria de 18,550/ $\mu$ L y cuenta plaquetaria de 34,000/ $\mu$ L. De las serologías virales tenía estudio de anticuerpos IgM contra EBV de 134 U/L. El ultrasonido abdominal reportó hígado de 15 cm y bazo de 17.2 cm. El EGO fue positivo para infección de vías urinarias. El estudio de médula ósea reveló a la microscopia células anormales con características atípicas de linaje linfoide (**Figura 1**). El estudio de médula ósea reportó inmunofenotipo con población del 50% con fenotipo positivo de CD45+, CD2+, CD3- CD4- CD5-, CD7+, CD8-, CD16+, CD56+ (**Figura 2**). En la biopsia de médula ósea se observó normocelular para la edad, maduración adecuada de las 3 series, con infiltración (30%) por pequeños grupos de células de tamaño mediano a grande, mononucleadas, de citoplasma moderado con nucléolos visibles localizadas

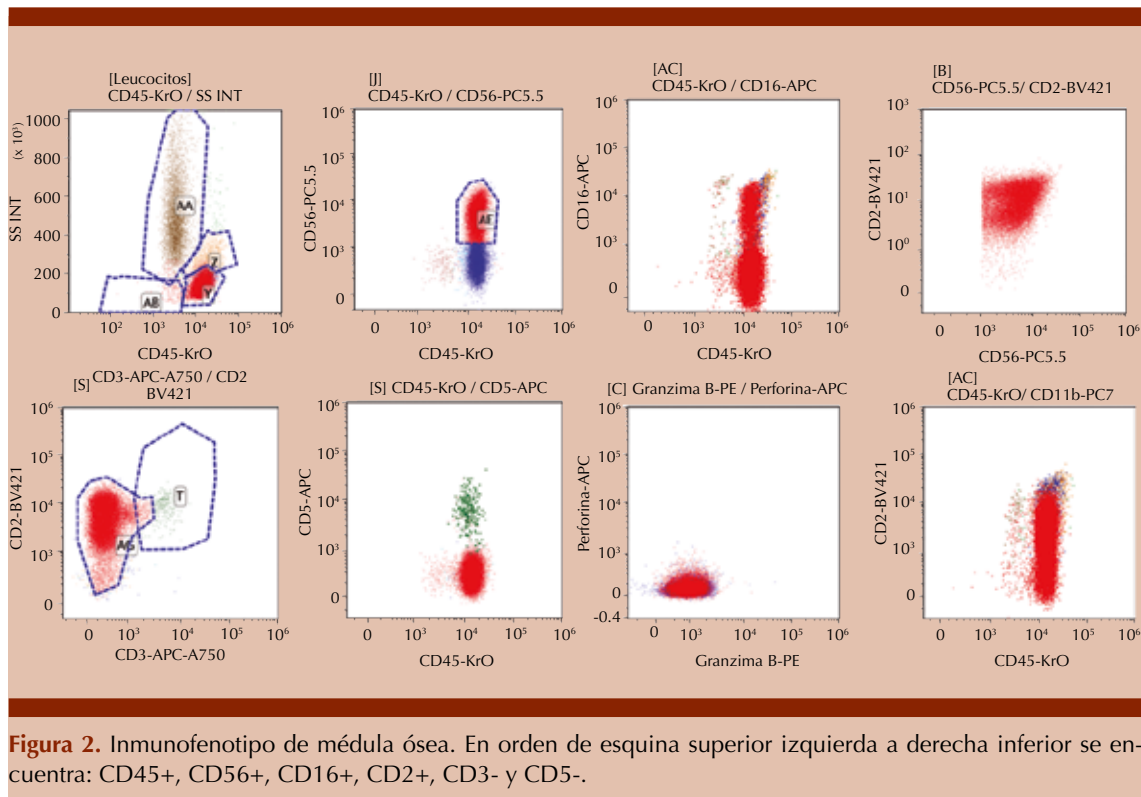
en el intersticio, positivas para CD2 y CD56, negativas para mieloperoxidasa, CD34 y virus de Epstein-Barr; compatible con leucemia de linfocitos grandes NK.

Se inició tratamiento con SMILE, durante el cual tuvo complicación con pancreatitis medicamentosa y coagulopatía intravascular diseminada. Se suspendieron las dosis de L-asparaginasa y se indicó tratamiento de soporte con lo que se observó mejoría en el día 25. Se valoró respuesta al tratamiento el día 28 con citometría de flujo con población clonal reportada del 1.2%. Por decisión del paciente se envió a segundo nivel donde se indicó segunda línea de tratamiento con esquema GELOX modificado (sin L-asparaginasa), sin alcanzar remisión de la enfermedad en su valoración de respuesta en diciembre de 2021. Recibió tercera línea de tratamiento con 2 ciclos de esquema VIC hasta el 29 de enero de 2022 cuando se documentó nuevamente falla



**Figura 1.** Aspirado de médula ósea. Células grandes de 18 a 20 micras. Citoplasma irregular basófilo con gránulos primarios y secundarios. Algunos con vacuolas en su citoplasma. Núcleo pleomorfo con cromatina abierta, 1-3 nucléolos.





**Figura 2.** Inmunofenotipo de médula ósea. En orden de esquina superior izquierda a derecha inferior se encuentra: CD45+, CD56+, CD16+, CD2+, CD3- y CD5-.

del tratamiento. El paciente tuvo hiperleucocitosis con más de 200,000 cél/ $\mu$ L, agregándose síntomas neurológicos con estudios de imagen con lesiones sugerentes de infiltración al sistema nervioso central. Recibió el último esquema con gemcitabina y oxaliplatino como intento de quimioterapia citorreductora y recibió en total 3 quimioterapias por vía intratecal sin alcanzar respuesta hematológica, por lo que, ante la mala respuesta al tratamiento, se decidió dar tratamiento paliativo con hidroxycarbamida, analgesia y apoyo transfusional.

### DISCUSIÓN

La leucemia de células NK es una enfermedad catalogada como agresiva e infrecuente en nuestro medio, ya que la mayoría de los casos se ha regis-

trado en la población asiática. No obstante, hay registro de casos en otras poblaciones. Las características clínico-patológicas de esta enfermedad suelen ser variables, mostrándose con síntomas B, crecimiento de hígado y bazo, adenopatías y algunas alteraciones bioquímicas. Un limitante para su diagnóstico es que carece de un inmunomarcaje y cariotipo específico. Sin embargo, la evolución y manifestación clínica, las características del inmunofenotipo y la edad de aparición son piezas clave para el diagnóstico. La infección por virus de Epstein-Barr puede asociarse con esta enfermedad, pero no en todos los casos.

### CONCLUSIONES

Como parte del protocolo de estudio de las enfermedades linfoproliferativas de células

NK, la manifestación clínica agresiva en pacientes jóvenes nos debe hacer sospechar este padecimiento, para entonces solicitar el inmunomarcaje específico que ayude a confirmarlo. Será siempre necesario investigar la infección por virus de Epstein-Barr activa, así como integrar la insuficiencia multiorgánica debida a la tormenta de citocinas que pueden manifestar estos pacientes, ya que estas características tienen relación directa con el pronóstico del paciente. Debido a que no es muy alta su eficacia, el tratamiento para estos pacientes aún no se ha establecido. Sin embargo, en la mayor parte de los ensayos clínicos suelen responder mejor a los esquemas de quimioterapia combinados con L-asparaginasa. En el mejor de los casos, el paciente es sometido a trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas, lo que mejora la supervivencia a 2 años hasta en el 38% de los pacientes. Aun así, el 70% de los pacientes fallecen, por lo que todavía queda mucho camino por recorrer en el manejo de esta enfermedad.

## REFERENCIAS

1. El Hussein S, Patel KP, Fang H, Thakral B, Loghavi S, Kana-gal-Shamanna R, Konoplev S, Jabbour E.J, Medeiros L.J, Khoury J.D. Genomic and immunophenotypic landscape of aggressive NK-cell leukemia. *Am J Surg Pathol* 2020; 44 (9): 1235-1243. doi: 10.1097/PAS.0000000000001518..
2. Royal College of Pathologists of Australasia. Extranodal NK/T cell lymphoma and aggressive NK cell leukaemia: evidence for their origin on CD56**bb**right CD16/**pdim** NK cells. 2015; 47 (6): 503-514.
3. Song S-Y, Kim WS, Ko YH, Kim K, Lee MH, Park K. Aggressive natural killer cell leukemia: clinical features and treatment outcome. *Haematologica* 2002; 87: 1343-1345.
4. El Hussein S, Medeiros J, Khoury JD. Aggressive NK cell leukemia: Current state of the art. *Cancers (Basel)* 2020; 12 (10):2900. doi: 10.3390/cancers12102900.
5. Jung KS, Cho SH, Kim SJ, Ko YH, Kang ES, Kim WS. L-asparaginase-based regimens followed by allogeneic hematopoietic stem cell transplantation improve outcomes in aggressive natural killer cell leukemia. *J Hematol Oncol* 2016; 9: 41. <https://doi.org/10.1186/s13045-016-0271-4>.
6. Hamadani M, Kanate AS, DiGilio A, Ahn KW, Smith SM, Lee JW, Ayala E, Chao N, Hari P, Bolanos-Meade J, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for aggressive NK cell leukemia. A Center for International Blood and Marrow Transplant Research Analysis. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017; 23: 853-856. doi: 10.1016/j.bbmt.2017.01.082.

doi.org/10.24245/rev\_hematol.v24i3.8867

## Derrame pleural como manifestación inicial de linfoma no Hodgkin patrón mixto asociado con leucemia linfoblástica aguda de precursores T

### Pleural effusion as the initial presentation of mixed pattern non-Hodgkin lymphoma associated with T precursor acute lymphoblastic leukemia.

Eduardo Sánchez Zazueta, Jesús Anguamea Maldonado, Jonnathan González Sánchez

#### Resumen

**ANTECEDENTES:** La realización de biopsia ganglionar es imprescindible para el diagnóstico de linfoma y subclasificar la estirpe histológica; sin embargo, la superposición con leucemia linfoblástica aguda es extremadamente rara y representa un reto diagnóstico.

**CASO CLÍNICO:** Paciente masculino de 33 años con linfoma no Hodgkin. El paciente manifestó como datos clínicos iniciales disnea, en el estudio de imagen se encontró derrame pleural izquierdo masivo. La biopsia mostró un linfoma no Hodgkin de precursores de células B con patrón mixto folicular y difuso subtipo linfoblástico. El inmunofenotipo de médula ósea encontró una población del 45% de blastos con CD1a-, CD3cyt+, CD2+/heterogéneo, CD3+, CD7++, HLADR+, CD123+ heterogéneo compatible con leucemia linfoblástica aguda de precursores T.

**CONCLUSIONES:** Es interesante cómo muchos linfomas no Hodgkin pueden ser un reto diagnóstico al no manifestar síntomas B, por lo que la biopsia como un análisis inmunohistoquímico es fundamental para guiar el tratamiento.

**PALABRAS CLAVE:** Linfoma no Hodgkin; derrame pleural; leucemia linfoblástica aguda; biopsia ganglionar.

#### Abstract

**BACKGROUND:** Lymph node biopsy is essential for the diagnosis of lymphoma and to subclassify the histological lineage; however, overlapping with acute lymphoblastic leukemia is extremely rare and represents a diagnostic challenge.

**CLINICAL CASE:** A 33-year-old male patient with non-Hodgkin lymphoma. The patient manifested dyspnea as initial symptom, finding a massive left pleural effusion on the imaging study. The biopsy revealed a B-cell precursor non-Hodgkin lymphoma with mixed follicular pattern and diffuse lymphoblastic subtype. The bone marrow immunophenotype found a population of 45% of blast cells with heterogeneous CD1a-, CD3cyt+, CD2+/heterogeneous, CD3+, CD7++, HLADR+, CD123+ compatible with T-precursor acute lymphoblastic leukemia.

**CONCLUSIONS:** It is interesting how many non-Hodgkin lymphomas can be a diagnostic challenge as they do not cause B symptoms, so biopsy as an immunohistochemical analysis is essential to guide treatment.

**KEYWORDS:** Non-Hodgkin lymphoma; Pleural effusion; Leukemia, acute lymphoblastic; Lymph node biopsy.

Departamento de medicina interna, Hospital General Regional núm. 1, Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad Obregón, Sonora, México.

**Recibido:** septiembre 2023

**Aceptado:** octubre 2023

#### Correspondencia

Eduardo Sánchez Zazueta  
eduardozaz859@gmail.com

**Este artículo debe citarse como:** Sánchez-Zazueta E, Anguamea-Maldonado J, González-Sánchez J. Derrame pleural como manifestación inicial de linfoma no Hodgkin patrón mixto asociado con leucemia linfoblástica aguda de precursores T. Hematol Méx 2023; 24 (3): 174-178.

## ANTECEDENTES

Los linfomas no Hodgkin son un grupo heterogéneo de trastornos linfoproliferativos originados en linfocitos B, linfocitos T y linfocitos *natural killer*; los linfomas de células B representan del 80 al 85% de todos los casos y del 15 al 20% siendo los linfomas de células T.<sup>1</sup> De las neoplasias de células B los dos tipos más frecuentes son el linfoma difuso de células grandes que corresponde al 3-58% y el linfoma folicular con alrededor del 22% de los casos.<sup>2</sup> El cuadro clínico depende de la estirpe; los síntomas B son más comunes en pacientes con subtipos agresivos, especialmente en sujetos con daño hepático y extraganglionar y los linfomas indolentes a menudo son insidiosos y se manifiestan con linfadenopatía de crecimiento lento, hepatomegalia, esplenomegalia o citopenias.<sup>3</sup>

El diagnóstico de un linfoma no Hodgkin requiere la demostración de linfocitos malignos en biopsia de un ganglio, tejido extralinfático o médula ósea; el estudio histológico con hematoxilina-eosina debe ser complementado con otros estudios, como el inmunofenotipo, que permite la determinación de la célula de origen estirpe B, T o de células NK, lo cual puede determinarse en células a través de la citometría de flujo, en tejidos fijados en parafinas o en biopsias por congelación.<sup>4</sup>

La leucemia linfoblástica aguda es la más común de las enfermedades neoplásicas en niños, representa del 75 al 80% de los casos agudos de las enfermedades malignas en este grupo de edad; la incidencia alcanza su punto máximo entre los dos y cinco años de edad, con ligero predominio entre los varones,<sup>5</sup> a diferencia de la leucemia linfocítica crónica de células B, que es la forma más frecuente de leucemia en los adultos y representa un 25%.<sup>6</sup>

Por tanto, comunicamos el caso clínico de un paciente previamente sano que inició con disnea

y derrame pleural; se realizaron diversos estudios que encontraron asociación entre dos neoplasias hematológicas con transformación a leucemia linfoblástica aguda, esta forma de manifestación es sumamente rara.

## CASO CLÍNICO

Paciente masculino de 33 años, ocupación estudiante de posgrado, sin antecedentes patológicos de importancia, que ingresó a nuestro servicio por padecer disnea progresiva de un mes de evolución. En el estudio de imagen (**Figura 1**) se encontró derrame pleural masivo izquierdo que requirió toracentesis en una ocasión y colocación de sonda endopleural en 2 ocasiones drenando un total de 2700 mL; a la exploración física solo destacó hipoaereación del hemitórax izquierdo, así como ganglio supraclavicular ipsilateral móvil, blando, doloroso a la palpación profunda, sin datos de respuesta inflamatoria sistémica, sin hepatomegalia, esplenomegalia y



**Figura 1.** Radiografía de tórax posteroanterior que muestra derrame pleural izquierdo.

negó síntomas B. En los estudios paraclínicos el panel viral fue negativo para virus de hepatitis B 0.28 UI/mL, virus hepatitis C 0.13 UI/mL, virus de inmunodeficiencia humana 0.06 UI/mL, biometría hemática con leucocitos en rangos normales en 6.4 k/ $\mu$ L, hemoglobina 14.3 g/dL, hematócrito 42.9%, VCM 92.1 fL, plaquetas 149 k/ $\mu$ L, creatinina 0.81 mg/dL, BUN 12 mg/dL, urea 25 mg/dL, glucosa 90 mg/dL, albúmina 2.9 g/dL, bilirrubina total 1.3 mg/dL, bilirrubina directa 0.4 mg/dL, bilirrubina indirecta 0.90 mg/dL, aspartato aminotransferasa 17 U/L, alanino aminotransferasa 36 U/L, gamma glutamiltransferasa 38 U/L, proteínas totales séricas 5.8 g/dL, dímero D 1560 UI, colesterol total 103 mg/dL, deshidrogenasa láctica sérica 211 U/L, citoquímico de líquido pleural compatible con derrame tipo exudado con proteínas totales 2.4 g/dL, deshidrogenasa láctica 568 U/L, reporte de estudio citopatológico en líquido pleural con alteraciones inflamatorias crónicas inespecíficas, negativo a malignidad, por lo que al estar inconcluso el estudio citopatológico se realizó tomografía simple y contrastada de tórax que evidenció múltiples adenopatías mediastinales, axilares y una en el cuello de 3 x 2 x 1.5 cm de diámetro con formación de conglomerados, posteriormente rastreo tomográfico de abdomen y pelvis sin alteraciones, por lo que se realizó toma de biopsia de ganglio linfático en el cuello fijado en formol al 10%, que se reportó como linfoma no Hodgkin de precursores de células B con patrón mixto folicular y difuso subtipo linfoblástico. **Figuras 2 y 3**

Se realizó inmunohistoquímica en laminillas positivas para TdT, Ki67, CD99, PAX-5 e índice de proliferación del 60%, por lo que se realizó aspirado de médula ósea encontrando una población de 45% de blastos con inmunofenotipo de médula ósea CD1a-, CD3cyt+, CD2+/heterogéneo, CD3+, CD7++, HLADR+, CD123+ heterogéneo compatible con leucemia linfoblástica aguda de precursores T; al establecer el diagnóstico definitivo se inició tratamiento con quimio-

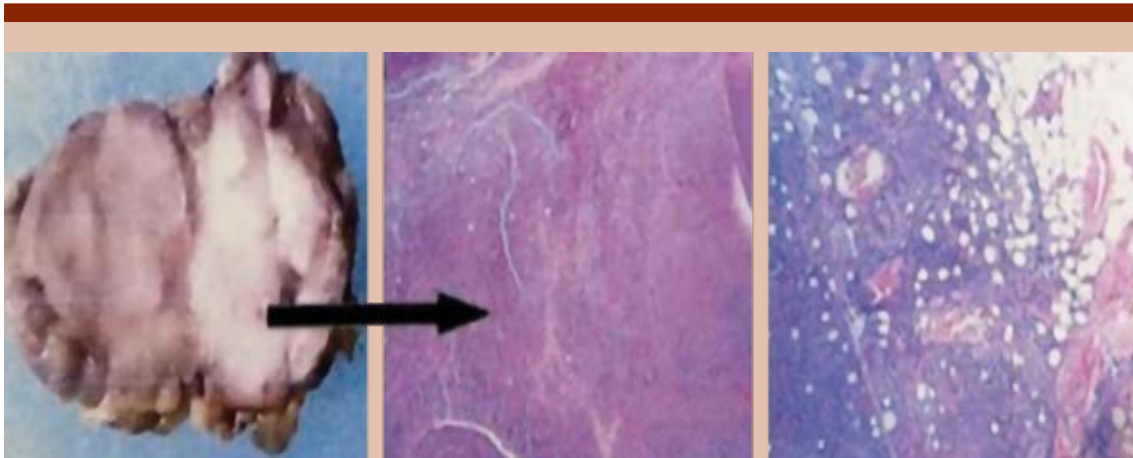
terapia HCVAD fase 1ª calculada a 1.74 m<sup>2</sup> de superficie corporal con ciclofosfamida 530 mg IV 6 dosis en conjunto con MESNA 550 mg IV, vincristina 2 mg IV una dosis, daunorrubicina 80 mg IV una dosis, dexametasona 40 mg IV 4 dosis, con lo que tuvo respuesta favorable con remisión del derrame pleural logrando retirar la sonda endopleural. Se concluyó el diagnóstico de neoplasia hematológica tipo linfoma no Hodgkin mixto con necesidad de seguimiento a largo plazo por la aparición de leucemia linfoblástica aguda de precursores T.

## DISCUSIÓN

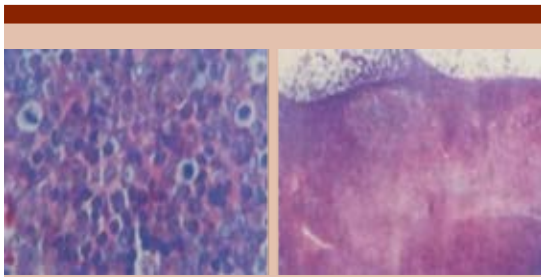
Lo que encontramos interesante en este caso es que la manifestación inicial del paciente fue disnea, por lo que se realizó una radiografía de tórax. La radiografía estándar de tórax identifica el derrame pleural cuando es mayor a 200 mL y en proyección lateral podría detectarse hasta volumen acumulado de 50 mL o más, generalmente presente en el ángulo costofrénico.<sup>7</sup>

La radiografía de tórax identificó un derrame pleural unilateral y posteriormente se realizó toracentesis para estudio citopatológico, que se reportó como negativo a malignidad; sin embargo, el citoquímico de líquido pleural orientó a exudado; al no mostrar datos de respuesta inflamatoria ni elevación de leucocitos se descartó un proceso infeccioso, lo que obligó a impulsar la investigación hacia malignidad al tener como segunda única manifestación una adenopatía cervical supraclavicular izquierda; a pesar de eso nunca tuvo síntomas B, hetatoesplenomegalia, dolor óseo ni datos de sangrado.

Nuestro caso insiste en la importancia de un análisis inmunohistoquímico con inmunofenotipo para el diagnóstico correcto de linfoma y descartar alguna otra neoplasia hematológica, como en este caso al detectar un 45% de blastos lo que fue compatible con leucemia; sin embargo, al ser un paciente adulto por frecuencia se



**Figura 2.** Biopsia de ganglio linfático de aspecto neoplásico sólido; corte microscópico de aspecto linfoide con patrón difuso y folicular.



**Figura 3.** Biopsia de ganglio linfático; se observan células con núcleo irregular, hendidas con mitosis frecuentes y áreas de predominio folicular.

esperaría una leucemia linfocítica crónica; sin embargo, el inmunofenotipo de médula ósea fue compatible con leucemia linfoblástica aguda de precursoras células T; al haber confirmado el diagnóstico se inició quimioterapia, con lo que remitió el derrame pleural unilateral y, por ende, la disnea.

## CONCLUSIONES

Los linfomas no Hodgkin representan en México la segunda neoplasia hematológica más frecuen-

te, requiriendo biopsia e inmunohistoquímica para poder subclassificar la estirpe histológica.

La sobreposición de un linfoma no Hodgkin con leucemia linfoblástica aguda en pacientes adultos no inmunosuprimidos es infrecuente, por lo que el análisis inmunohistoquímico es fundamental para el diagnóstico preciso y poder guiar el tratamiento oportuno.

## REFERENCIAS

1. Zelenetz AD, Abrar JS. Non-Hodgkin's lymphomas clinical practice guidelines in oncology. *JNCCN* 2010; 8: 288-334. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2010.0021>
2. Vicente Peña E, Vicente Sánchez BM. Enfermedades del sistema hemolinfopoyético. Linfomas. *Medicina Interna. Diagnóstico y tratamiento*. La Habana: ECIMED, 2016: 497-498.
3. Armitage JO, Weisenburger DD. New approach to classifying non-Hodgkin's lymphomas: clinical features of the major histologic subtypes. *J Clin Oncol* 1998; 16: 1998-2795. <https://doi.org/10.1200/JCO.1998.16.8.2780>.
4. Zhou Z, Sehn LH, Rademaker AW, Gordon LI, Lacasce AS, Crosby-Thompson A, et al. An enhanced International Prognostic Index (NCCN-IPI) for patients with diffuse B-cell lymphoma treated in the rituximab era. *Blood* 2014; 123: 837-842. <https://doi.org/10.1182/blood.2013-09-524108>.

5. Lustosa de Sousa DW, de Almeida Ferreira FV, Cavalcante Félix FH, de Oliveira Lopes MV. Acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents: prognostic factors and analysis of survival. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2015; 37 (4): 2239. <https://doi:10.1016/j.bjhh.2015.03.009>.
6. Vandenberghe, Peter. Genetic lesions and the malignant phenotype of haematological cancers. *Verh K Acad Geneesk Belg* 2007; 69: 291-313.
7. Hallifax RJ, Talwar A, Wrightson JM, Edey A, Gleeson FV. State-of-the-art: Radiological investigation of pleural disease. *Respiratory Medicine* 2017; 124: 88-99. <https://doi:10.1016/j.rmed.2017.02.013>.

Los artículos deben enviarse vía electrónica mediante el sistema de gestión OJS (Open Journal System) Nieto Editores de la Revista de Hematología, junto con el formato de cesión de derechos de autor (firmado por todos los autores) y confirmar que se trata de un artículo inédito. Sólo debe ingresar a <https://www.revisionporpares.com/index.php/RHematol/login>, registrarse y seguir paso a paso para cargar sus archivos, que serán evaluados por pares. Los trabajos no aceptados se devolverán al autor principal agregando una copia al editor Luis Villela a: [luisvillela@yahoo.com](mailto:luisvillela@yahoo.com)

En el enlace <https://www.amehac.org/open-journal-system-para-autores-de-la-revista-de-hematologia/> podrá encontrar una guía para hacer uso del sistema.

Los manuscritos deben elaborarse siguiendo las recomendaciones del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas (N Engl J Med 1997;336:309-15) y se ajustan a las siguientes normas:

1. Las secciones se ordenan de la siguiente manera: autores, descripciones, dirección para envío de correspondencia al editor.
2. La extensión máxima de los *originales* será de 15 hojas, de los *casos clínicos* 8 hojas y cuatro figuras o cuadros. Las *revisiones* no excederán 15 hojas.  
Si todos los autores pertenecen a servicios diferentes pero a una misma institución, el nombre de ésta se pondrá una sola vez y al final. La identificación de los autores deberá hacerse con números en superíndice.
3. Todo el material gráfico (cuadros, figuras y fotografías) deberá ser de calidad (nitidez y enfoque) para que su reproducción sea excelente. Se recomienda incluir todo tipo de ilustración enseguida de las referencias bibliográficas.
4. Las gráficas, dibujos y otras ilustraciones deben dibujarse profesionalmente o elaborarse con un programa de cómputo y adjuntarlas al mismo archivo de texto.
5. Los cuadros (y no tablas) deberán numerarse con caracteres arábigos. Cada uno deberá tener un título breve; al pie del mismo se incluirán las notas explicativas que aclaren las abreviaturas poco conocidas. No se usarán líneas horizontales o verticales internas. Todos los cuadros deberán citarse en el texto.
6. **Tipo de artículos:** la revista publica artículos originales en el área de investigación clínica o de laboratorio, editoriales, artículos de revisión, biotecnología, comunicación de casos y cartas al editor. Se reciben artículos en los idiomas español e inglés.
7. Resumen no mayor de 250 palabras, y deberá estar estructurado en antecedentes, material y método, resultados y conclusiones. Con esta estructura se deberán enunciar claramente los propósitos, procedimientos básicos, metodología, principales hallazgos (datos concretos y su relevancia estadística), así como las conclusiones más relevantes. Al final del resumen se proporcionarán de 3 a 10 palabras o frases clave. Enseguida se incluirá un resumen (abstract) en inglés.
8. **Abstract.** Es una traducción correcta del resumen al inglés.
9. **Texto.** Deberá contener antecedentes, material y métodos, resultados y discusión, si se trata de un artículo experimental o de observación. Otro tipo de artículos, como comunicación de casos, artículos de revisión y editoriales no utilizarán este formato.
  - a) **Introducción.** Expresa brevemente el propósito del artículo. Resume el fundamento lógico del estudio u observación. Mencione las referencias estrictamente pertinentes, sin hacer una revisión extensa del tema. No incluya datos ni conclusiones del trabajo que está dando a conocer.
  - b) **Material y método.** Describa claramente la forma de selección de los sujetos observados o que participaron en los experimentos (pacientes o animales de laboratorio, incluidos

los testigos). Identifique los métodos, aparatos (nombre y dirección del fabricante entre paréntesis) y procedimientos con detalles suficientes para que otros investigadores puedan reproducir los resultados. Explique brevemente los métodos ya publicados pero que no son bien conocidos, describa los métodos nuevos o sustancialmente modificados, manifestando las razones por las cuales se usaron y evaluando sus limitaciones. Identifique exactamente todos los medicamentos y productos químicos utilizados, con nombres genéricos, dosis y vías de administración.

- c) **Resultados.** Preséntelos siguiendo una secuencia lógica. No repita en el texto los datos de los cuadros o figuras; sólo destaque o resuma las observaciones importantes.
- d) **Discusión.** Insista en los aspectos nuevos e importantes del estudio. No repita pormenores de los datos u otra información ya presentados en las secciones previas. Explique el significado de los resultados y sus limitaciones, incluidas sus consecuencias, para la investigación futura. Establezca el nexo de las conclusiones con los objetivos del estudio y absténgase de hacer afirmaciones generales y extraer conclusiones que carezcan de respaldo. Proponga nuevas hipótesis cuando haya justificación para ello.
- e) **Referencias.** Numere las referencias consecutivamente siguiendo el orden de aparición en el texto (identifique las referencias en el texto colocando los números en superíndice y sin paréntesis). Cuando la redacción del texto requiera puntuación, la referencia será anotada después de los signos pertinentes. Para referir el nombre de la revista utilizará las abreviaturas que aparecen enlistadas en el número de enero de cada año del Index Medicus. No debe utilizarse el término "comunicación personal". Sí se permite, en cambio, la expresión "en prensa" cuando se trata de un texto ya aceptado por alguna revista, pero cuando la información provenga de textos enviados a una revista que no los haya aceptado aún, citarse como "observaciones no publicadas". Se mencionarán todos los autores cuando éstos sean seis o menos, cuando sean más se añadirán las palabras y *col.* (en caso de autores nacionales) o *et al.* (si son extranjeros). Si el artículo referido se encuentra en un suplemento, se agregará Suppl X entre el volumen y la página inicial.

La cita bibliográfica se ordenará de la siguiente forma en caso de revista:

Torres BG, García RE, Robles DG y col. Complicaciones tardías de la diabetes mellitus de origen pancreático. Rev Gastroenterol Mex 1992;57:26-229.

Si se trata de libros o monografías se referirá de la siguiente forma: Hernández RF. Manual de anatomía. 2ª ed. México: Méndez Cervantes, 1991;120-129.

Si se tratara del capítulo de un libro se indicarán el o los autores del capítulo, nombre del mismo, ciudad de la casa editorial, editor del libro, año y páginas.

10. **Transmisión de los derechos de autor.** Se incluirá con el manuscrito una carta firmada por todos los autores, conteniendo el siguiente párrafo: "El/los abajo firmante/s transfiere/n todos los derechos de autor a la revista, que será propietaria de todo el material remitido para publicación". Esta cesión tendrá validez sólo en el caso de que el trabajo sea publicado por la revista. No se podrá reproducir ningún material publicado en la revista sin autorización.

**Revista de Hematología** se reserva el derecho de realizar cambios o introducir modificaciones en el estudio en aras de una mejor comprensión del mismo, sin que ello derive en un cambio de su contenido. Si tiene dudas puede dirigirse al editor, Dr. Luis Villela, al correo: [luisvillela@yahoo.com](mailto:luisvillela@yahoo.com)



Articles must be sent electronically through the management system OJS (Open Journal System) Nieto Editores of the Journal of Hematology, together with the copyright transfer format (signed by all the authors) and confirm that it is an article unpublished. You just have to enter: <https://www.revisiorporpares.com/index.php/RHematol/login>, register and follow step by step to upload your files, which will be evaluated by pairs. The works not accepted will be returned to the main author by adding a copy to the editor Luis Villela to: [luisvillela@yahoo.com](mailto:luisvillela@yahoo.com)

In the link <https://www.amehac.org/open-journal-system-para-autores-de-la-revista-de-hematologia/> you can find a guide to use the system.

Manuscripts should be made following recommendations of the International Committee de Medical Journal Editors (N Engl J Med 1997;336:309-15) and adjusted to the following guidelines.

1. Sections are ordered in the following form: page title, structures abstract, summary, introduction, materials and methods, results, discussion, references, tables and captions.
2. The maximum extension of originals will be 15 pages, for clinical cases 8 pages, and four for figures or tables. Reviews will not exceed 15 pages.  
The first page will contain the full title of the article, not exceeding 85 characters, the names of the authors, services or departments and institution(s) they belong to and the leading author address. If all the authors belong to different services of the same institution, their name will be mentioned only once at the end. Authors' identification should be done superscript Arabic numbers.
3. For identification, each page of the article should have, on the upper left corner, the initial of the name and last name of the leading author, and on the upper right corner, the consecutive page number.
4. All graphic material should be sent in slides, black-and-white, sharp and clearly defined, in the slide frame write in ink the code word to identify the article, the figure number, last name of the leading author and with an arrow the top part of the figure will be marked. If the slide includes material formerly published, it should come with the written authorization of the copyright holder.
5. Graphs, drawings and other illustrations should be professionally drawn or made by computer and attached in the same disk the text writing is, on the label written the program used.
6. Tables (and non-charts) should be numbered with Arabic numbers. Each should have a brief title; the footnotes will include explanatory notes to clarify abbreviations poorly known. Do not use horizontal or vertical inner lines. All tables should be quoted in the text.
7. **Type or articles:** the journal publishes original articles in the area of clinical or laboratory research. Editorials, review articles, biotechnology, case communications and letters to the editor. Articles are received in Spanish and English languages.
8. **Summary.** The second page will include a summary, no longer than 250 words and will be structured in background, materials and methods, results an conclusions. Following this, an abstract written in English will be provided.
9. **Abstract.** This is the right translation of the summary to English.
10. **Text.** Text should contain introduction, materials and methods, results and discussion, if this is an experimental or observational article. Other articles, like case communications, review articles and editorials will not use this format.
  - a) **Introduction.** Briefly express the purpose of the article. Summarize the logic grounds of the study or observation. Quote only strictly pertinent references, without making extensive review of the topic. Do not include data or conclusions of the job you are making known.
  - b) **Material and methods.** Describe clearly in the selection the way you selected the observed subjects or those who participated

in the experiments (patients or laboratory animals, including controls). Identify methods, devices (name and address of the manufacturer in parentheses) and detailed procedures for others to reproduce the results. Briefly explain formerly published methods which are not widely known, describe new or substantially modified methods, manifesting the reasons why you used them and assessing their limitations. Identify every single medication and chemical product used, with generic name, dose and route of administration.

- c) **Results.** Present them following in a logical sentence. Do not repeat data from tables or figures within the text; just emphasize or summarize the pertinent observations.
- d) **Discussion.** Emphasize new and important aspects of the study. Do not repeat details in the data or other information previously mentioned in other sections. Explain the meaning of the results and their limitations, including their consequences for future research. Establish the connection of the conclusions with the study objectives and refrain from making general statements and making conclusions without support. Suggest a new hypothesis when it is justified.
- e) **References.** Number the references consecutively following the appearance order in the text (identify the references within the text with superscript numbers without parentheses). When the text need punctuation, the reference will ne annotated after the pertinent signs. To refer the name of a journal use abbreviations listed every year in the January number of the Index Medicus. The term "personal communication" should not be used. On the other hand, it is allowed to use the expression "in press" when it refers to an already accepted text by some journal, but when the information comes from texts sent to a journal which has not accepted yet, it should be referred to as "non-published observations". All authors should be mentioned when there are six or less, when there are more, add the words *and cols.* (in the case of national authors) or *et al.* (if foreigners). If the cited article is located in a supplement, add suppl X between the volume and the initial page.

In the case of a journal, bibliographic citations will be ordered in this way:

Torres BG, García RE, Robles DG et al. Late complications of diabetes mellitus of pancreatic origin. *Rev Gastroenterol Mex* 1992;57:226-229.

In the case of books or monographs, reference will be:

Hernández RF. *Anatomy manual*. 2nd edition. Mexico: Méndez Cervantes, 1991;120-129.

In the case of a book chapter, indicate the author(s) in the chapter, the name of the chapter, city of publishing house, the book's editor, year and pages.

11. **Transfer-of-copyright.** Along with the manuscript, deliver a letter signed by all the authors, with the following paragraph: "The undersigned author(s) transfer all copyrights to the journal, which will be the holder of all submitted material for publication". This transfer will be valid only in the case that the journal publishes the paper. No material can be reproduced without the journal's authorization.
12. We recommend to include citations from Mexican or Latin American authors in the bibliographic references.

**Hematología** reserves the right to make changes or include modifications in the study in order of better understanding of such, without modifying its content.

If you have any questions, you can contact the editor, Dr. Luis Villela, at the email: [luisvillela@yahoo.com](mailto:luisvillela@yahoo.com)

## Instrucciones para los autores

### CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Los abajo firmantes estamos conformes con lo mencionado en los incisos previos, como en el tipo de crédito asignado en este artículo:

• TÍTULO DEL ARTÍCULO \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

• NOMBRE COMPLETO DEL AUTOR O AUTORES \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

• LOS AUTORES CERTIFICAN QUE SE TRATA DE UN TRABAJO ORIGINAL, QUE NO HA SIDO PREVIAMENTE PUBLICADO NI ENVIADO PARA SU PUBLICACIÓN A OTRA REVISTA. MANIFIESTAN QUE NO EXISTE CONFLICTO DE INTERESES CON OTRAS INSTANCIAS.

• TAMBIÉN ACEPTAN QUE, EN CASO DE SER ACEPTADO PARA PUBLICACIÓN EN REVISTA DE HEMATOLOGÍA, LOS DERECHOS DE AUTOR SERÁN TRANSFERIDOS A LA REVISTA.

NOMBRE Y FIRMA DE TODOS LOS AUTORES:	NOMBRE	FIRMA
	_____	_____
	_____	_____
	_____	_____
	_____	_____
	_____	_____

• VISTO BUENO (NOMBRE Y FIRMA) DE AUTORIZACIÓN DE LA INSTITUCIÓN DONDE SE REALIZÓ EL TRABAJO:

NOMBRE	FIRMA
_____	_____
_____	_____
_____	_____

LUGAR: \_\_\_\_\_ FECHA: \_\_\_\_\_